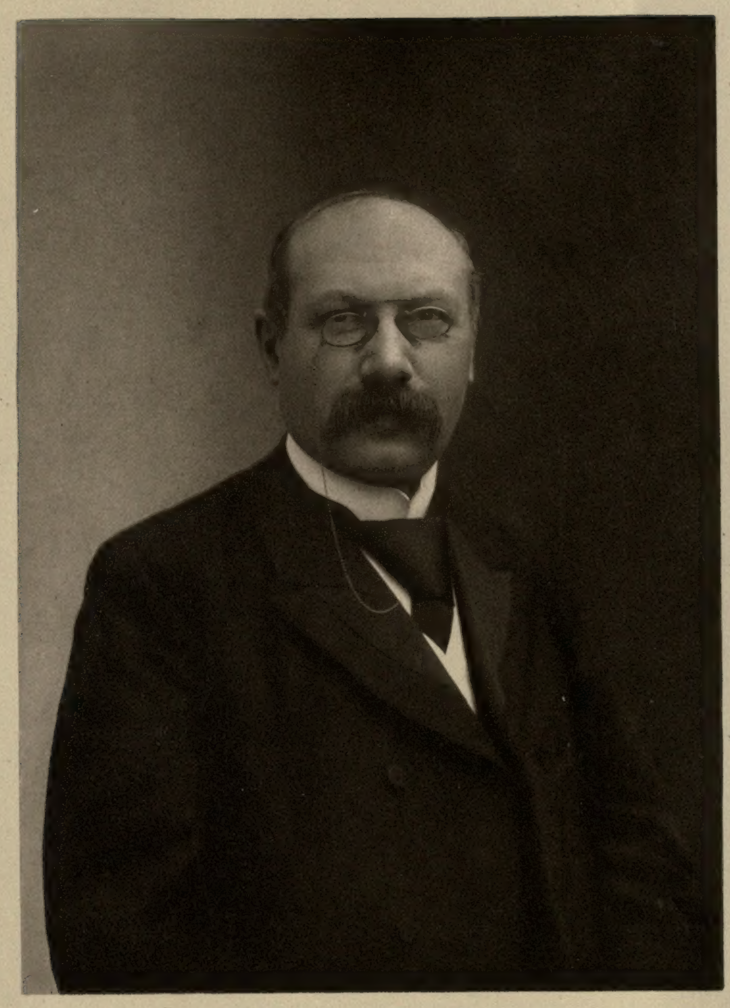

3 1761 05443136 6



H. J. Hamburger.

Festband

der

Biochemischen Zeitschrift

Biochemische Zeitschrift

Herausgegeben von

E. Buchner-Berlin, **P. Ehrlich**-Frankfurt a. M., **C. von Noorden**-Wien, **E. Salkowski**-Berlin, **N. Zuntz**-Berlin

unter Mitwirkung von

L. Asher-Bern, J. Bang-Lund, G. Bertrand-Paris, A. Bickel-Berlin, F. Blumenthal-Berlin, Chr. Bohr-Kopenhagen, F. Bottazzi-Neapel, G. Bredig-Heidelberg, A. Durig-Wien, F. Ehrlich-Berlin, G. Embden-Frankfurt a. Main, S. Flexner-New York, S. Fränkel-Wien, E. Freund-Wien, G. Galeotti-Neapel, H. J. Hamburger-Groningen, A. Heffter-Berlin, M. Jacoby-Heidelberg, R. Kobert-Rostock, M. Kumagawa-Tokyo, F. Landolf-Buenos Aires, L. Langstein-Berlin, P. A. Levene-New York, L. von Liebermann-Budapest, J. Loeb-Berkeley, A. Loewy-Berlin, A. Magnus-Levy-Berlin, J. A. Mandel-New York, L. Marchlewski-Krakau, P. Mayer-Karlsbad, L. Michaelis-Berlin, J. Morgenroth-Berlin, W. Nernst-Berlin, R. Pfeiffer-Königsberg, Ch. Porcher-Lyon, F. Roehmann-Breslau, S. Salaskin-St. Petersburg, N. Sieber-St. Petersburg, M. Siegfried-Leipzig, Zd. H. Skraup-Wien, S. P. L. Sörensen-Kopenhagen, E. H. Starling-London, F. Tangl-Budapest, H. v. Tappeiner-München, H. Thoms-Berlin, J. Traube-Charlottenburg, A. J. J. Vandevelde-Gent, A. Wohl-Danzig, J. Wohlgemuth-Berlin

Redigiert von

C. Neuberg-Berlin

Festband für H. J. Hamburger



Berlin

Verlag von Julius Springer

1908



Festband
der
Biochemischen Zeitschrift

H. J. Hamburger

gewidmet

zur Feier seiner vor fünfundzwanzig Jahren erfolgten Doktorpromotion

von

seinen Freunden und Verehrern

Mit einer Einleitung

von

Ernst Cohen

Mit 22 Textfiguren und 5 Tafeln und 1 Heliogravüre



Berlin
Verlag von Julius Springer
1908


LIBRARY
APR 7 1967
UNIVERSITY OF TORONTO

Hartog Jakob Hamburger.

Von

Ernst Cohen.

In physicis nil desperandum duce chimia, omnia bona speranda in medicis. Boerhaave.

Das Protokoll der am 29. Dezember 1883 gehaltenen Sitzung der naturwissenschaftlichen Klasse der königlichen Akademie der Wissenschaften zu Amsterdam wird sowohl für die Biologie wie für die Chemie seinen Wert bleibend behaupten.

Herr Donders teilt folgendes mit: „Im Anschluß an die Mitteilungen von Herrn Hugo de Vries (Protokoll vom 27. Oktober 1882) „Über die Anziehung zwischen gelösten Substanzen und Wasser in verdünnten Lösungen“ untersuchte Herr Hamburger, Assistent am physiologischen Institut der Universität zu Utrecht, für verschiedene in Wasser gelöste Stoffe das Verhalten dieser Anziehung den Blutkörperchen des Rindes gegenüber.

Im Blute, auch in dem defibrinierten, sind die Blutkörperchen im Gleichgewicht mit der Blutflüssigkeit, bzw. mit dem Serum.

Setzt man dem Blute Wasser zu, so schwellen die Blutkörperchen an und geben bald ihren Farbstoff (Hämoglobin) an die umgebende Flüssigkeit ab; werden ziemlich konzentrierte Salzlösungen zugesetzt, so ziehen die Blutkörperchen sich, wie beim Eindampfen, zusammen.

Es hatte sich herausgestellt, daß die Konzentrationen der Lösungen, in denen die Blutkörperchen unverändert bleiben, für manche Stoffe in derselben Richtung lagen, wie de Vries für die Pflanzenzellen gefunden hatte; es erschien deshalb wichtig zu untersuchen, ob und inwiefern verschiedene Stoffe den Blutkörperchen gegenüber mit entsprechenden isotonischen Koeffizienten auftreten. Es konnte nach zwei Methoden verfahren werden: nach der mikroskopischen sowie der makroskopischen.

Zuerst wurde die mikroskopische angewandt; sie versprach indes, wenigstens bei den Warmblütern, keine scharfen Ergebnisse. Eine bessere Aussicht eröffnete die makroskopische Methode. Sie besteht darin, daß die betreffende Lösung dem defibrinierten Blute zugesetzt wird; verwendet man Lösungen mit höherem Salzgehalt, so setzen sich die Blutkörperchen darin zu Boden, während die überstehende Flüssigkeit beinahe farblos erscheint im sehr verdünnten Serum; bei geringeren Konzentrationen setzen sich die Körperchen unvollkommen ab, und die darüberstehende Flüssigkeit ist dann rot gefärbt.

In erster Linie wurden die Grenzen für Salpeter festgestellt, jedesmal (wie auch in den späteren Versuchen) beim Mischen und Schütteln im Reagensrohr von 2 ccm defibrinierten Blutes mit 20 ccm der betreffenden Lösung. Bei 1,04 $^0/_0$ setzten sich die Körperchen noch vollkommen zu Boden, während die Flüssigkeit farblos war. Bei 0,96 $^0/_0$ nur unvollkommen; die Flüssigkeit war dann rot gefärbt.

Die Grenze liegt somit bei etwa 1 $^0/_0$ — merkwürdigerweise ist diese Konzentration beinahe vollkommen gleich dem Salpetergehalte, 1,01 $^0/_0$, bei dem de Vries das Eintreten von Plasmolyse der Pflanzenzellen gefunden hatte. Auch für viele andere Stoffe, wie Chlornatrium, Kaliumsulfat, Rohrzucker, Kaliumacetat,

Kaliumoxalat, Magnesiumsulfat (mit 7 aq.), Magnesiumsulfat (wasserfrei) und Chlorcalcium (geschmolzen) war die Übereinstimmung eine befriedigende, nur für Zucker war die erforderliche Konzentration etwas höher, für Kaliumacetat und Magnesiumsulfat etwas niedriger.

Mit den von de Vries verwendeten Säuren (auch mit Borsäure), die alle zersetzend wirken, sowie mit Chlorammonium, ließ sich kein Resultat erzielen.

Aber Herr Hamburger benutzte noch andere Stoffe und untersuchte, inwiefern sie sich den isotonischen Koeffizienten anschlossen, die nach dem dritten de Vriesschen Satze (vgl. Protokoll XIX, S. 321) zu erwarten waren, und erhielt dabei die nachstehend verzeichneten Ergebnisse:

Stoffe	Gehalt, wobei die Blutkörperchen in einer farblosen Flüssigkeit sich senken %	Gehalt, wobei die Blutkörperchen weniger vollkommen sich senken und die Flüssigkeit rot ist %	Im Durchschnitt %	Berechnet %	Mit Koeffizient
Jodkalium . . .	1,71	1,57	1,64	1,66	3
Jodnatrium . .	1,54	1,47	1,55	1,50	3
Bromkalium . .	1,22	1,13	1,17	1,19	3
Bromnatrium .	1,06	0,98	1,02	1,03	3
Chlormagnesium 6 aq	1,58	1,47	1,575	1,522	4
Chlorbarium 2 aq	1,87	1,75	1,81	1,83	4

Aus der Tabelle ist ersichtlich, daß die gefundenen und berechneten Werte sehr wenig differieren. Die für die bei den Erdalkalien stimmen selbst besser als bei de Vries, der für $MgCl_2$ und $CaCl_2$ 4,3 fand, während Hamburger einen Koeffizienten ermittelte, der kaum von 4 verschiedcn ist. Übrigens lassen sich, wie er glaubt, noch genauere Zahlenwerte erzielen.

Die meisten Bestimmungen wurden mit defibriniertem Rinderblut ausgeführt. Bestimmungen mit nicht defibriniertem, frischem Blute werden noch ausgeführt

werden, soweit die erforderlichen Konzentrationen die Gerinnung verhindern; dabei wird sich dann auch herausstellen können, ob der Einfluß auf die Gerinnung in irgendwelchem Zusammenhange mit den isotonischen Koeffizienten steht. In einem Falle wurden die Grenzen für Salpeter auf 1,1 und 1,04, im Mittel 1,075 % ermittelt, statt 1 % und hier wurde nun auch für die anderen Stoffe eine etwas höhere Konzentration gefunden. Blut, das 2 bis 6 Tage gestanden hatte, lieferte dieselben Ergebnisse wie frisches Blut. Schweineblut erforderte Lösungen von derselben Konzentration wie Rinderblut, das Blut des Frosches dagegen viel geringere Konzentrationen, die indes noch näher zu ermitteln sind.

Die makroskopische Methode liefert nicht die eigentliche Gleichgewichtsgrenze; es scheint, daß die Blutkörperchen ein wenig Wasser aufzunehmen imstande sind, ehe sie ihren Farbstoff abgeben. Auch scheinen sie sich weniger vollkommen zu Boden zu setzen. Auf Froschblut wird sich die mikroskopische Methode besser anwenden lassen. Unter dem Einfluß des Zuckers treten eigentümliche Veränderungen ein, die an Plasmolyse erinnern und die über die Struktur dieser Körperchen in erwünschter Weise Licht verbreiten. Hierüber indes später Näheres.

Die Anwendung dieser Untersuchungen auf andere Flüssigkeiten und Gewebe (auch lebende) dürfte noch zu wichtigen Ergebnissen führen."

Seitdem ist ein Vierteljahrhundert verflossen, und sind wir in der Lage, die Richtigkeit dieser Prognose an den Tatsachen zu prüfen.

Wenn heute aber das 25jährige Doktorjubiläum des damaligen Assistenten von Donders sowohl in physiologischen wie in physikalisch-chemischen Kreisen mit Freuden begrüßt wird — der vorliegende Jubelband

liefert davon den schlagenden Beweis — so schließt das bereits in sich, daß die Prophezeihung des Utrechter Altmeisters in Erfüllung gegangen ist.

Die kleine Stadt Alkmaar in der Provinz Nord-Holland nimmt in der holländischen Geschichte einen wichtigen Platz ein. „In Alkmaar beginnt der Sieg", so lautete der Kriegsruf der niederländischen Truppen, als der so gefürchtete Herzog von Alba 1573 die Belagerung der Stadt, die beinahe zwei Monate dauerte, aufzugeben sich genötigt sah.

Auch in der Geschichte der Naturwissenschaft wird der Name Alkmaar dauernd genannt werden: Bakhuis Roozeboom und Hamburger erblickten in dieser Stadt das Licht der Welt.

Seinen dort in sehr bescheidenen Verhältnissen lebenden Eltern wurde am 9. März 1859 ein Sohn geboren, der die Namen Hartog Jakob erhielt.

Nachdem er bis zu seinem dreizehnten Jahre die Elementarschule besucht hatte, bezog er 1872 die „Hoogere Burgerschool", eine Realschule, die er fünf Jahre später nach glücklich bestandenem Abiturientenexamen verließ.

Schon während seiner Schuljahre hatte er den festen Entschluß gefaßt, sich der Chemie zu widmen. Daß der vorzügliche Unterricht, den der damalige Direktor der Schule, Dr. Boeke, seinen Schülern erteilte, hierbei seinen Einfluß geltend gemacht hat, kann nicht wundernehmen. So schrieb unser Jubilar denn auch nach dreißig Jahren an van Bemmelen in Leiden über die damals unter Boekes Leitung verlebte Zeit: „Bereits in der dritten Klasse der ‚Hoogere Burgerschool' fühlte ich mich durch seinen Unterricht in hohem Maße zur Chemie angezogen. Dabei wurde ich ganz besonders gefesselt durch die anregende Art und Weise, in der er diesen Unterricht erteilte, durch die Klarheit seines Vortrags, die fast

niemals versagenden Experimente und ganz speziell durch den humanen Umgang mit seinen Schülern. Er war so durch und durch gutmütig. Obwohl Boeke mir den Rat gab, mich nicht der Chemie sondern der Medizin zu widmen, da die Aussichten beim Mittelunterricht sehr ungünstig waren, so entschloß ich mich dennoch dazu, mich der Chemie zuzuwenden und bei Herrn Dr. de Gelder Stunden zu nehmen in den klassischen Sprachen.

Es war mir sehr willkommen, daß ich nach meinem Abiturientenexamen noch während zwei Jahren in Boekes Laboratorium unter dessen Leitung arbeiten konnte. Dort machte ich viele chemische Präparate und beteiligte mich an einer Untersuchung über die quantitative Bestimmung des Arsens in forensischen Fällen. Er lehrte mich sorgfältiges Arbeiten, zeigte mir den Weg in die Literatur und erweckte in mir die Lust zu selbständigen wissenschaftlichen Studien.

Ihm verdankte ich, daß ich bereits nach zwei Jahren das Kandidatsexamen zu absolvieren imstande war und meine Doktorarbeit anfangen konnte, während ich auch die Assistentenstelle für physiologische Chemie annahm, die mir von Donders angeboten wurde.

Wenn ich nach meiner Promotion zum Doctor chemiae dennoch diese medizinischen Studien fortgesetzt habe, so war es die von Boeke in mir erweckte Liebe zur Chemie, die mich dazu brachte, Donders Rate nicht zu folgen. Sechs Jahre hindurch blieb ich sein Assistent; er vermochte indes nicht, mich in seine nicht-chemische Richtung zu ziehen."

Daß diese gründlichen Vorstudien in der Wissenschaft, der er sich zu widmen gedachte, ihre Früchte trugen, werden wir später sehen.

1879 verließ Hamburger seine Vaterstadt, um sich, nachdem er das erwähnte Examen absolviert hatte, der Utrechter Universität zuzuwenden, wo er zunächst als Student der Naturwissenschaften immatrikuliert

wurde. Mit welchem Eifer er seinen Studien oblag, ersehen wir aus der Tatsache, daß er sich bereits zwei Jahre später Kandidat der Naturwissenschaften nennen durfte. Es sollte indes nicht lange dauern, so trat eine für seine spätere Entwicklung entscheidende Wendung in seinem Studiengange ein. Ein flüchtiger Blick auf den Werdegang der medizinischen Wissenschaften, speziell der Physiologie, in Holland wird uns den Schritt, den er damals tat, als selbstverständlich erscheinen lassen.

In Roser und Wunderlichs Archiv für physiologische Heilkunde war 1848 ein Aufsatz erschienen über die medizinischen Lehranstalten Niederlands, dessen Verfasser, Jac. Moleschott, der damals in Heidelberg als Privatdozent wirkte, seine Landsleute in scharfen Worten angriff über die Art und Weise, in der die Besetzung der medizinischen Lehrstühle in Holland stattfand. Seine Kritik gipfelte in dem Satze, daß „im allgemeinen die Bildung der jüngeren Ärzte in Niederland eine grundschlechte“ sei.

Da ich Ursache habe zu vermuten, daß heute auch in medizinischen Kreisen nicht bekannt ist, daß Moleschott die damals gewählte Form seiner Kritik in späteren Jahren selbst als eine weniger glückliche betrachtete, so setze ich hier die Worte hin, mit denen er sich in seinem so überaus fesselnden Buche „Für meine Freunde“ über seinen damaligen Standpunkt äußert: „Sollte ich nun aber in jenem Aufsatze gegen einzelne härter gewesen sein als billig war, so stehe ich nicht an, deshalb demütig um Verzeihung zu bitten. Ja, ich gehe noch weiter, ich spreche es ohne Mühe selber aus, daß jene Anklagen in einem übermütigen und beinahe frechen Tone in die Welt geschleudert wurden, was mich nicht hindert, heute noch zu glauben, daß ich in meiner Charakteristik im Guten wie im Bösen tatsächlich das Richtige getroffen habe. Könnte ich die

kleine Abhandlung noch einmal schreiben, so würde ich gern das Gute noch heller beleuchten, das wenig Entsprechende nicht verschweigen, aber mehr in den Schatten stellen . . . .“

Die Ernennung von Donders in Utrecht war der einzige Lichtpunkt, den man in Moleschotts schwarzseherischem Aufsatze erblickte. „Allein diese Lücke ist durch die kürzlich erfolgte Ernennung von Donders vollkommen ausgefüllt. Donders ist den Physiologen in Deutschland hinlänglich bekannt. Ich entsage also der Freude, ihn näher zu charakterisieren, weil es überflüssig wäre und weil ich ihm persönlich zu nahe stehe. Nur das eine will ich hier noch erwähnen, daß Donders ein glänzendes Lehrtalent besitzt . . .“

Die Blütezeit für die Physiologie in Holland, die sich an diese Ernennung schloß, die Tatsache, daß das von Donders zu Utrecht errichtete Laboratorium Jahrzehnte hindurch ein Zentrum bildete, dem die Jünger aller Herren Länder zuströmten, dies alles beweist zur Genüge, daß Moleschotts Urteil über Donders ein durchaus zutreffendes war.

Kann es wunder nehmen, daß auch unser chemiae candidatus sich unter diesen Verhältnissen dazu angezogen fühlte, den glänzenden Vorlesungen des berühmten Physiologen beizuwohnen? So sehen wir ihn denn auch während mehrerer Jahre unter den Zuhörern im physiologischen Institut.

Es dauerte nicht lange, so zog er Donders Aufmerksamkeit auf sich, der ihn, den 22jährigen, alsbald als Assistent an seinem Institut engagierte, wo er ein physiologisch chemisches Praktikum zu leiten hatte.

Obwohl er hierdurch sehr in Anspruch genommen wurde, und auch die Fortsetzung seiner chemischen Studien viel Zeit forderte, fand er dennoch die Gelegenheit, im organisch-chemischen Laboratorium mit seinem Lehrer E. Mulder zwei kleinere Arbeiten auszuführen,

die 1882 im Receuil des Travaux Chimiques des Pay-Bas erschienen.

Nachdem das sog. „Doctoraal Examen“ glücklich bestanden war, widmete er sich unter Leitung des damaligen Professors der anorganischen Chemie, Dibbits, seiner Doktorarbeit, die 1883 zum Abschluß gelangte. Die Promotion zum „Chemiae Doctor“ erfolgte am 4. Juni desselben Jahres.

Das Thema zu dieser Arbeit lieferten ihm einige Beobachtungen, die er im physiologischen Institut zu machen Gelegenheit gehabt hatte. „Die Methode der Harnstoffbestimmung, welche seit 1853 am meisten angewandt wurde, ist unstreitig die von Liebig. Prof. Pflüger hat das große Verdienst, sehr begründete Einwände gegen dessen Verfahren gemacht und im Anschluß damit eine eingreifende Modifikation vorgeschlagen zu haben, welche zu weit genaueren Resultaten führen kann. Indessen kam es mir nach einem eingehenden Studium der Pflügerschen Arbeit vor, daß dessen Methode wohl noch etwas zu wünschen übrig läßt, und ich hielt es darum nicht für ganz überflüssig, eine andere Methode zu versuchen, welche ich mir nachstehend mitzuteilen erlaube.“

Das Hamburgersche Verfahren unterscheidet sich darin von dem Quinquaudschen, welches in einer Bestimmung des Harnstoffs mittels bromierter Lauge besteht, daß es dabei ganz gleichgültig ist, in welchem Verhältnisse man Brom, Natronhydrat und Wasser mischt, m. a. W. jede Bromlauge läßt sich hier zum Titrieren verwenden.

„Until the warm feelings of surviving kindred and admiring friends shall be cold as the grave, from which remembrance vainly recalls their cherished forms invested with all the life and energy of recent existence, the volumes of their biography must be sealed; their contemporaries can expect only to read their *éloge*“.

Ich glaube im Sinne von Babbage zu handeln, wenn ich darauf hinweise, daß die Doktorarbeit unseres Jubilars uns in keiner Weise Anlaß gab, auf die hervorragenden Leistungen zu prognostizieren, die die Wissenschaft ihm seitdem verdankt.

Nur wenige Monate später erschien die Arbeit, deren wesentlichen Inhalt wir aus Donders Mund bereits kennen gelernt haben und die in erweiterter Form alsbald in die Zeitschriftliteratur überging.

Folgen wir unserem Studenten zunächst weiter bei seinen akademischen Studien. Unserem Studenten, denn bereits ehe er sich den Titel eines chemiae doctor erworben hatte, war der Plan zur Reife gekommen, sich dem Studium der Medizin zuzuwenden. Wer den bedeutsamen Einfluß eines Donders, eines Engelmanns (auch dieser hatte inzwischen seinen Einzug in das physiologische Institut gehalten) gekannt hat, dem wird dieser Entschluß nicht auffallend erscheinen.

Dennoch gehörte ein nicht geringes Maß an Energie und Schaffenslust dazu, den ganz besonders schweren Anforderungen Genüge zu leisten, die in Holland an den Medizin Studierenden gestellt werden.

Dabei lag er nicht nur seinen Pflichten als Assistent ob, sondern sah sich dazu genötigt, durch Ausführung chemisch-technischer Untersuchungen seine finanzielle Lage auszubessern.

Glänzend wurden jegliche Schwierigkeiten überwunden: im Januar 1886 bestand er das Supplementsexamen für Zoologie und Botanik, wenige Monate später (im Juni) das medizinische Kandidatsexamen. Diesem folgte dann Oktober 1887 das sog. „Doctoraal Examen.“

Schlägt man die von van der Plaats verfaßte Geschichte der Tierarzneischule in Utrecht nach, der Schule, deren Ställen van't Hoff nach Kolbes Aussage den Pegasus entlehnte, mit dem er den che-

mischen Parnaß erklomm, so findet man in der Liste der dem Lehrkörper der Schule angehörigen Dozenten seit Februar 1888 den Namen Hamburgers unter nicht weniger als fünf verschiedenen Lehrfächern angeführt. Zuerst glaubt man einem Versehen gegenüberzustehen; die nähere Untersuchung belehrt uns alsbald, daß unser Doctorand am 1. Februar des genannten Jahres tatsächlich als Nachfolger Zwaardemakers an diese Schule berufen wurde mit einem Lehrauftrag für Physiologie, Histologie, pathologischer Anatomie, allgemeiner Pathologie und praktischer Mikroskopie.

„The task of an investigator requires for its success the toughness of a soldier, the temper of a saint and the training of a scholar“: Welche „toughness“ müssen wir unserem Jubilar zuschreiben, wenn wir ihn diese Überbürdung mit Lehrfächern mehr als zwölf Jahre tragen sehen, während er sich zu gleicher Zeit der Forschung widmet in einer Weise, die so schöne Früchte gezeitigt hat?

Der 9. Juli 1888 brachte ihm den Titel eines Doktors der Medizin, nachdem er eine Doktorarbeit verfaßt hatte über: „Der Sehpurper im monochromatischen Licht“, eine Untersuchung, die offenbar von Donders veranlaßt war, der sich damals der Ophthalmologie zugewandt hatte.

Nachdem Franz Boll in Rom entdeckt hatte, daß der Sehpurpur beim Sehen eine gewisse Rolle spielt, waren von Kühne und Ewald weitere Untersuchungen über denselben Gegenstand ausgeführt worden, deren Ergebnisse sich indes nicht deckten mit denjenigen des italienischen Forschers.

Eine Neubearbeitung des Problems erschien erwünscht, lieferte indes Resultate, die sich nur in einzelnen Punkten mit den der früheren Beobachter in Übereinstimmung befanden.

Aber auch nach dieser Promotion war die lange Reihe von Prüfungen, die unser junger Doktor bereits bestanden hatte, nicht abgeschlossen. Im nächsten Jahre hatte er noch das Staatsexamen, das sog. „Artsexamen“ zu absolvieren, das ihm das Recht verlieh, sich als praktischer Arzt niederzulassen. Von diesem Rechte hat er indes nur .... in den Sommerferien Gebrauch gemacht, indem er seine Mußestunden dazu benutzte, als Stellvertreter seines Bruders einzutreten, der in dem kleinen Orte Voorthuizen in der Provinz Gelderland den Beruf eines praktischen Arztes ausübte.

Jetzt war er ein freier Mann, insofern hiervon bei der obenerwähnten Überbürdung mit Lehrfächern die Rede sein konnte. Glaubt man, daß ihm die nötigen Hilfskräfte zur Verfügung gestellt wurden, so irrt man gänzlich, ja, anfangs mußte er sich mit einem völlig unbrauchbaren Laboratoriumsdiener zufrieden geben, der sich mehr dem Dienste des Gottes Bacchus als dem unseres jungen Doktors widmete.

Erst in späteren Jahren wurde ihm ein Assistent zugewiesen. Auch die Unterrichtsmittel ließen in den ersten Jahren vieles zu wünschen übrig: so sah er sich häufig dazu genötigt, die Anschaffungskosten der Versuchstiere, die er in den Vorlesungen benutzte, aus eigenen Mitteln zu bestreiten.

Sein energisch fortgesetztes Drängen bei den betreffenden Behörden hatte schließlich den erwünschten Erfolg: nach zwölf Jahren wurde ihm ein neues Laboratorium mit den erforderlichen Hilfsmitteln zur Verfügung gestellt. Ehe er aber seinen Einzug in das neue Institut zu halten imstande war, gehörte er bereits dem Lehrkörper der Tierarzneischule nicht mehr an.

Wer die Lebensgeschichte hervorragender Forscher auf dem Gebiete der exakten Wissenschaften studiert, wird darin fast immer ein Klagelied finden über die dem betreffenden Helden vorenthaltenen nötigsten Mittel, es sei, daß

es sich um Lehrmittel handelt, oder auch, daß ihm das Nötigste zur Forschung fehlt. Auch die bei unserem Helden in so unzweideutiger Weise auftretende Überbürdung mit Lehrfächern und amtlichen Beschäftigungen findet sich immer wieder. Es scheint demnach wohl eine seit Jahrzehnten, ja, seit Jahrhunderten den betreffenden Behörden eigne Kurzsichtigkeit zu sein, daß sie die ihrer Obhut anvertrauten Lehrkräfte in unerhörter Weise ausbeuten und sie infolgedessen sowohl als Dozenten wie als Forscher frühzeitig untauglich machen.

Nur demjenigen, der über ein mehr als gewöhnliches Maß von Energie verfügt, gelingt es, sich dennoch bleibend seinen Lieblingsstudien zu widmen, oder sich, Dank sei seinem Feuereifer, über die zu überwindenden Schwierigkeiten hinwegzusetzen. Daß dazu neben der „toughness of a soldier“ auch manchmal „the temper of a saint“ gehört, leuchtet dem Sachkundigen wohl ohne weiteres ein.

Dennoch schien Hamburgers Leistungsfähigkeit nicht gesättigt. Schlagen wir den neunzehnten Band der Zeitschrift für Tierarzneikunde und Viehzucht auf, so finden wir darin eine in der Gesellschaft zur Förderung der Tierarzneikunde gehaltene Diskussion über die Frage, ob die Errichtung eines bakteriologischen Instituts seitens dieses Vereins erwünscht wäre. Eines der Mitglieder glaubte, daß bereits an der Tierarzneischule in dieser Richtung gearbeitet würde, mehrere jüngere Mitglieder bestritten dies jedoch. „Gegen diese letztere Auffassung sehe ich mich zu protestieren genötigt. Jedes Jahr gebe ich den Schülern des dritten Studienjahres die Gelegenheit, sich beim Anfang des Unterrichtes in der praktischen pathologischen Mikroskopie in den wichtigsten bakteriologischen Untersuchungsmethoden zu üben. Zwar gehört dies nicht zu meinem Lehrauftrag, aber ich bin der Meinung, daß,

falls an irgendwelcher Anstalt eine wichtige Unterrichtsbranche stiefmütterlich behandelt wird, es die moralische Pflicht ist eines jeglichen Dozenten, der die entsprechende Lücke kennt, zu deren Ausfüllung das seinige beizutragen.“

Diese Äußerung ist so charakteristisch für das Tun und Lassen unseres Jubilars, daß ich mir das Vergnügen nicht versagen konnte, seine Auffassung mit seinen eigenen Worten hier hinzusetzen.

Fragt man, was er seinen Schülern an der Tierarzneischule war, so sollen sie selbst darauf antworten: „In den Jahren, während welcher er unser Lehrer war, haben wir ihn als einen treuen, hilfsbereiten Freund kennen gelernt, der uns stets das wärmste Interesse entgegenbrachte.“ Hätte Arago einmal Hamburgers Vorlesungen beiwohnen können, so würde er sich vielleicht in derselben Weise geäußert haben, wie er es seinerzeit über Monge tat: „d'autres parlent mieux, personne ne professe aussi bien!“

Die wissenschaftlichen Leistungen, die in die Zeit fallen, während der unser Jubilar an der Tierarzneischule wirkte, entsprechen in ihrer Vielseitigkeit durchaus der großen Anzahl von Lehrfächern, denen er sich zu widmen hatte.

Obwohl die von ihm geschaffene physikalisch-chemische Biologie in den Vordergrund trat, finden wir darunter auch manche Studie auf dem Gebiete der vergleichenden Pathologie, zu der seine Umgebung ihm das nötige Material lieferte. Daß seine Tätigkeit in dieser Richtung auch in tierärztlichen Kreisen hochgeschätzt wurde, dafür zeugt die Tatsache, daß man ihn zur Mitarbeit an die „Ergebnisse der allgemeinen Pathologie und Anatomie von Lubarsch und Ostertag heranzog, und ihn dazu aufforderte, sich an der vergleichenden Histologie der Haussäugetiere von Ellenberger zu beteiligen.

Aber auch die Pathologie, Bakteriologie und die pathologische Anatomie verdanken ihm manche wichtige Arbeit. Die dieser Einleitung beigegebene Bibliographie gibt darüber nähere Auskunft.

Bekanntlich pflegte Bunsen die Tatsache, daß er unvermählt geblieben war, mit seinem Mangel an Zeit zu entschuldigen.

Daß es unserem Freunde unter den geschilderten Verhältnissen stets an Zeit mangelte, liegt auf der Hand. Er wußte indes jeden Moment auszunützen: Am 1. April 1891 führte er Frédérique Cohen Gosschalk aus Zwolle heim, die ihm seitdem eine liebenswürdige und feinsinnige Gattin, eine treue Hilfe bei seinen Arbeiten geblieben ist.

„Le bien dont les hommes d'étude sont le plus jaloux, c'est la tranquillité d'esprit!"

Nicht nur diese Gemütsruhe wußte sie ihm zu verschaffen; auch beim Abfassen seiner Abhandlungen, die er vorzugsweise durch Diktieren für den Druck vorbereitete, war sie ihm stets behilflich, ja, blieb es auch dann, als nach mehreren Jahren ihre Zeit durch mütterliche Pflichten mit Beschlag belegt wurde.

Die große Bedeutung von Hamburgers Wirken im verflossenen Vierteljahrhundert liegt in der Tatsache, daß er, fußend auf den von Hugo de Vries an Pflanzenzellen angestellten Beobachtungen, diese auf physiologische Probleme anwandte, daß er später, als die Zeit dazu reif war, wichtige Prinzipien der physikalischen Chemie für die Bearbeitung biologischer Fragen fruchtbar zu machen gewußt hat.

Doch der den Augenblick ergreift,
Das ist der rechte Mann.

Ihm fällt mit andern Worten das Verdienst zu, den Begriff des osmotischen Druckes in seiner Anwendung auf verdünnte Lösungen, wie er 1885 von van 'tHoff entwickelt wurde, in die medizinische Wissenschaft ein-

geführt zu haben, wo es galt, die dunklen Probleme zu lösen, die dem Biologen täglich entgegentreten. Er war es, der in einer Reihe von mit großem Geschick durchgeführter Arbeiten die Anwendung dieses Begriffes, seine Fruchtbarkeit auf dem genannten Gebiete klargelegt hat.

Ich erinnere hier nur an seine Studien über die Resorption, in denen er die Bedeutung rein physikalischer und chemischer Einflüsse auf derartige Vorgänge ans Licht förderte und deren Ergebnis in dem Satze gipfelt, daß der tierische Organismus bestrebt ist, den osmotischen Druck der Körperflüssigkeiten möglichst konstant zu halten.

In seinem Vaterlande wurde die Bedeutung derartiger Untersuchungen einem größeren Publikum gegenüber zuerst in ein helles Licht gestellt durch den Vortrag „Über die physiologische Bedeutung der jüngsten Strömungen auf chemischem und physikalischem Gebiet, den van't Hoff auf der holländischen „Naturforscherversammlung“ im April 1891 zu Utrecht hielt. In den ersten Jahren, bis etwa 1889, war Hamburger wohl der einzige gewesen, der die neuen Bahnen wandelte. Bald aber folgten einige ausländische Forscher seinen Schritten; der Erfolg dieser wenigen lenkte die Aufmerksamkeit einer größeren Anzahl von Fachgenossen auf das neu erschlossene Gebiet, und seitdem wird es von zahllosen Arbeitern (wer zählt die Völker, nennt die Namen?) durchstreift, die mit den Hilfsmitteln der modernen allgemeinen Chemie gerüstet, neue Wege auszuforschen bestrebt sind um den Schleier zu lüften, in dem die Natur sich verhüllt. Die Erfolge, die nach fünfundzwanzigjährigem, unverdrossenem Schaffen zu verzeichnen sind, bestätigen die Worte Boerhaaves, die ich als Motto dieser Einleitung vorausschickte: *in physicis nil desperandum, duce chimia, omnia bona speranda in medicis!*

Aber auch die Chemie ist unserem Jubilar zu Dank verpflichtet. Haben doch seine Untersuchungen, speziell die auf hämatologischem Gebiete, eine willkommene Stütze geliefert für die Richtigkeit der physikalisch-chemischen Prämissen, auf denen sie fußen.

Wer aber an die exakte Wissenschaft u. a. die Forderung stellt, daß sie zur Erhöhung der Volkswohlfahrt, des menschlichen Glückes, ihren Beitrag liefert, der wird sich durch die hier kurz angedeuteten Errungenschaften in hohem Maße befriedigt fühlen.

Weniger befriedigt fühlte sich die chemische Welt, als gewisse Mediziner, die sich selbst als Wortführer der neuen Richtung zu betrachten schienen, eine nicht geringe Anzahl chemiatrischer Fehlbegriffe einzuführen drohten. Wie vielen dieser Autoren hätte man nicht zurufen mögen:

Dein redseliges Buch lehrt mancherlei Neues und Wahres;
Wäre das Wahre nur neu, wäre das Neue nur wahr!

Daß diesem Treiben eine ungenügende Beherrschung der betreffenden Hilfswissenschaften zugrunde lag, leuchtet indes dem Sachkundigen bald ein.

Unter den geschilderten Verhältnissen schwoll die Literatur auf dem neugeschaffenen Gebiete unverhältnismäßig schnell an, und es machte sich demzufolge bald das Bedürfnis nach einer sachgemäßen Übersicht über das bisher Erreichte fühlbar, nach einer Trennung des Weizens von der Spreu.

Wer könnte zur Abfassung eines derartigen Werkes mehr berufen gewesen sein als der Gründer der neuen Richtung selbst? Wohl hatte er dann und wann, wenn die Gelegenheit sich dazu bot, in größeren Versammlungen spezieller Vereine eine Übersicht gegeben über den derzeitigen Stand des von ihm und seinen Kommilitonen bearbeiteten Gebietes, ein mehr zusammenfassendes, die Arbeit aller ernster Mitarbeiter enthaltendes Werk lag indes nicht vor.

Seinem unermüdlichen Schaffen verdanken wir das mehr als anderthalbtausend Seiten umfassende, grundlegende, historisch kritisch geschriebene Werk, das in drei Bänden während der Jahre 1901 bis 1904 erschien unter dem Titel „Osmotischer Druck und Ionenlehre in den medizinischen Wissenschaften. Zugleich Lehrbuch physikalisch-chemischer Methoden.“ Nicht nur entsprach es völlig dem obenerwähnten Bedürfnisse, sondern es zeigt durch die befolgte Behandlungsweise des Gegenstandes auch die Lücken in unserem Wissen und regt dadurch den aufmerksamen Leser zur Ausfüllung derselben, d. h. also zu neuen Studien an.

Auch in dieser Leistung tritt uns die „toughness of a soldier“ unseres Jubilars, die ausdauernde, treue Beihilfe seiner Lebensgefährtin in unzweideutiger Weise entgegen.

Dieses Werk, das bereits in Utrecht angefangen war, wurde in Groningen abgeschlossen, wohin, wie man sogleich erfahren wird, Hamburger inzwischen (1901) übergesiedelt war. Aber nicht allein durch sein Wirken als Lehrer, durch seine schriftstellerische Tätigkeit förderte er die Verbreitung der neuen Ideen. Auch manche Kongreßleitung forderte ihn dazu auf, den Fachgenossen im mündlichen Vortrag über die neueren Errungenschaften Mitteilung zu machen.

Nicht nur als Forscher, auch als Persönlichkeit wird er im Kreise der Fachgenossen gern gesehen. Seine große Anspruchslosigkeit — on est modeste en présence de la nature — sein liebenswürdiges und angenehmes Wesen sind auch außerhalb des engeren Freundeskreises bekannt.

Es könnte fast überflüssig heißen darauf hinzuweisen, daß zahlreiche Körperschaften es sich zur Ehre rechneten, ihn ihren Mitgliedern bzw. Ehrenmitgliedern zuzählen zu können. Ich nenne hier nur die königliche Akademie der Wissenschaften zu Amsterdam, die So-

ciété royale des sciences médicales et naturelles de Bruxelles, die Königl. Kaiserl. Gesellschaft der Ärzte in Wien, die Reale Accademia medica di Roma. Die Universität zu Aberdeen promovierte ihn vor zwei Jahren zum L. L. D.

Wenden wir uns nochmals der Zeit zu, während welcher er in Utrecht wirkte, so ist zu bemerken, daß bisher für die Studierenden der Tierarzneischule noch nicht die Gelegenheit besteht, sich dort den Titel eines Doktors der Tierarzneikunde zu erwerben. Diejenigen, die ihre Studien in dieser Weise abschließen wollen, müssen ins Ausland gehen. Dessen ungeachtet wurden mehrere Dissertationen unter Hamburgers Leitung bearbeitet; die betreffenden Doktoranden promovierten dann später an einer auswärtigen Universität.

Wer dem Lebensgange unseres Jubilars bis hier gefolgt ist, dem wird es einleuchten, daß die Groninger Universität ihn ihren Lehrkräften einzuverleiben versuchte als der dortige Lehrstuhl für Physiologie und Histologie infolge des Ausscheidens von Huizinga frei wurde.

Am 28. September 1901 hielt er seine Antrittsrede: „Die Physikalische Chemie in ihrer Bedeutung für die medizinischen Wissenschaften“, in der er Dreser das Verdienst zuspricht, die Theorie der verdünnten Lösungen in die Biologie eingeführt zu haben.

Nachdem er Umschau gehalten hat, bespricht er die Errungenschaften der letzten Jahre auf dem Gebiete der Fermentwirkungen und fährt dann fort: „Und in dieser Weise wird das Terrain der Neovitalisten ein stets weniger umfangreiches. Selbst läßt sich die einfache Gelatineplatte der lebenden Zelle an die Seite stellen, wo es deren geheimnisvolles Elektionsvermögen gilt, das sie in den Stand setzt, gewisse Stoffe zu sich zu nehmen, andere dagegen abzuhalten. Und die Lehre der Zellenpermeabilität, die sich heute

noch im ersten Stadium ihrer Entwicklung befindet, scheint mir dazu berufen, noch viel mehr des Mysteriösen dieses Auswahlsvermögens der Zellen beiseite zu schaffen.

Viele hören derartige Überlegungen nur ungern; sie erblicken darin eine gewisse Trivialität, eine Verkennung der Schönheit der organisierten Natur, die ja nimmer so einfach sein kann. Ich schließe mich dieser Auffassung nicht an. Die sogenannten Mechanisten stehen in ihrer Bewunderung für die Natur den Neovitalisten in keiner Weise nach! . . . . Wir arbeiten ruhig auf dem eingeschlagenen Wege weiter, wobei wir den Blick stets gerichtet halten auf die Fortschritte der Physik und Chemie."

Aber auch andere Aufgaben harren in seinem neuen Wohnsitze ihrer Lösung, nehmen seine Schaffenskraft in Anspruch: der Bau eines neuen physiologischen Instituts ist geplant und wird in nächster Zeit zur Ausführung gelangen. Dies mag wohl auch der Grund sein, daß er vor wenigen Tagen einen Ruf ablehnte an die Schwesteruniversität in der Stadt, wo er so lange Jahre gewirkt hatte.

Daß das neue Laboratorium ganz auf der Höhe der Zeit stehen, daß es ein Zentrum wissenschaftlichen Lebens und Treibens bilden wird, dafür bürgt uns die Vorgeschichte unseres Jubilars.

— — — — — — — — — — — — — — — —

Nach abermals fünfundzwanzig Jahren wird zweifelsohne nicht allein die Geschichte des physiologischen Instituts der Tierarzneischule zu Utrecht, aber auch die des Groninger Neubaues mit goldenen Lettern in dem Werdegang der medizinischen Wissenschaften zu verzeichnen sein.

Utrecht, / Wiesbaden, im April 1908.

Verzeichnis der Schriften von H. J. Hamburger.

1882.

1. L'action de l'éthylate de sodium sur le dibromosuccinate symétrique de sodium (en collaboration avec M. E. Mulder) (Recueil des Travaux chimiques des Pays-Bas I, 154—155.
2. Le dosage des halogènes dans les combinaisons de carbone (Ibid. I, 156—147).

1883.

3. De quantitatieve bepaling van ureum in urine. (Dissertation zur Erlangung der Würde eines Doctor chemiae. Utrecht, 4. Juni.)
4. De invloed van scheikundige verbindingen op bloedlichaampjes in verband met haar molekulairgewichten. (Procesverbaal Koninkl. Akademie v. Wetenschappen. 29. December.) (Mit diesen Blutkörperchenuntersuchungen begann die Ära physikalisch-chemischer Forschung in den medizinischen Wissenschaften.)

1884.

5. Titrieren des Harnstoffs mittels Bromlauge. (Zeitschr. f. Biol. 20, 286 bis 306).
6. De invloed van scheikundige verbindingen op bloedlichaampjes, in verband met haar molekulairgewichten. (Onderz. physiol. lab. Utr. Hoogeschool (3) IX, 26—42.)

1885.

7. De veranderingen van roode bloedlichaampjes in zout- en suikeroplossingen. (Proces verhaal Kon. Akad. v. Wetensch. 26 Maart.)

1886.

8. Über den Einfluß chemischer Verbindungen auf Blutkörperchen im Zusammenhang mit ihren Molekulargewichten. (du Bois-Reymonds Archiv 1886, 476 bis 487.)

9. Hoeveel water kan men bij bloed voegen zonder dat haemoglobine uittreedt? (Onderz. physiol. laborat. Utr. Hoogeschool (3) X, 33—35.)
10. De veranderingen van roode bloedlichaampjes in zout- en suikeroplossingen. (Onderz. physiol. lab. Utr. Hoogesch. (3) X, 35—58.)
11. Bijdrage tot de kennis der hemialbumose. (Onderz. physiol. lab. Utr. Hoogesch. (3) X, 64—85.)

1887.

12. Über die durch Salz- und Rohrzuckerlösungen bewirkten Veränderungen der Blutkörperchen. (du Bois-Reymonds Archiv, 1887, 31 bis 51.)

1888.

13. Staafjesrood in monochromatisch licht. (Dissertation zur Erlangung der Würde eines Medicinae Doctor. Utrecht 9. Juli.)

1889.

14. Sarcomatöse Infiltration einer Schweinsniere. (Virchows Archiv CXVII, 422—423 und Ned. Tijdschr. v. Geneesk. (2), 525—526.
15. Actinomyces im Knochensysteme eines Pferdes. (Virchows Archiv CXVII, 423—427 und Ned. Tijdschr. v. Geneesk. (2), 526—529.)
16. Ein Tumor an der Pleura diaphragmatica einer Kuh und eine Bemerkung über das Pigment von Melanosarcomen. (Virchows Archiv CXVII, 427—429 und Ned. Tijdschr. v. Geneesk. 530—531.)
17. Eine eigentümliche Veränderung der Nasenscheidewand eines Pferdes. (Virchows Archiv CXVII, 429—430 und Ned. Tijdschr. v. Geneesk. (2), 531—532.)
18. Zur Ätiologie der Mitralinsufficienz. (Virchows Archiv CXVII, 430—432 und Ned. Tijdschr. v. Geneesk. (2), 223—225.
19. Pseudoleukaemie bij een paard. (Ned. Tijdschr. v. Veeartsenijk. 132—137.)
20. Multipele verlammingen bij een paard. (Ned. Tijdschr. v. Veeartsenijk. XVII, 137—147.)
21. Over de permeabiliteit der roode bloedlichaampjes in verband met de isotonische Coëfficienten. (Versl. d. Kon.

Akad. v. Wetensch. (3) VII, 15—23 und Maandblad v. Natuurwetensch. No, 4 und 5, Jahrgang 1889, 1—16.)

22. Die Permeabilität der roten Blutkörperchen im Zusammenhang mit den isotonischen Coëfficienten. (Zeitschr. f. Biol. 26, 414—433.)

1890.

23. Die isotonischen Coëfficienten und die roten Blutkörperchen. (Zeitschr. f. physikal. Chem. 6, 319—333.)

24. Über die Reglung der Blutbestandteile bei hydrämischer Plethora, Hydrämie und Anhydrämie. (Zeitschr. f. Biol. 27, 259—308 und Versl. Kon. Akad. v. Wetensch. (3) VII, 364—420.)

25. Elektromotorische Kraft, hervorgerufen durch die Atmung. (Centralbl. f. Physiol. 7. Juni und Nederl. Tijdschr. v. Geneesk. (1), 629—634.)

26. Een Carcinoom in de vena cava bij een hond. (Ned. Tijdschr. v. Veeartsenijk. XVII, 177—185.)

27. Pseudoleukaemie bij een kat. (Ibid. XVII, 185—189.)

28. Over ontaarding van periphere zenuwen bij dieren. (Ibid. XVII, 189—193.)

29. Tabes dorsalis bij een hond; opmerkingen over zenuwziekten bij huisdieren. (Ibid. XVII, 193—197.)

1891.

30. Über den Einfluß des Nervus sympathicus auf die Atmung. (Zeitschr. f. Biol. 28, 305—318, und Ned. Tijdschr. v. Geneesk. (2), 489—496.)

31. Over de purgeerende werking van middenzouten. (Ned. Tijdschr. v. Geneesk. (2), 801—820.)

32. Over den invloed der ademhaling op de permeabiliteit der bloedlichaampjes. (Versl. Kon. Akad. v. Wetensch. (3) IX, 197—210.)

1892.

33. Über den Einfluß der Atmung auf die Permeabilität der roten Blutkörperchen. (Zeitschr. f. Biol. 28, 405—416.)

34. Het onderwijs in bacteriologie aan de Rijksveeartsenijschool. (Ned. Tijdschr. v. Veeartsenijk. XIX.)

35. Over den invloed van zuur en alkali op gedefibrineerd bloed. (Versl. Kon. Akad. v. Wetensch. (3) IX, 354—391, und du Bois-Reymonds Archiv. 513—544.)

36. Sur l'influence des alcalis et des acides sur la détermination de la pression osmotique au moyen des globules rouges du sang. (Recueil des Travaux chimiques des Pays-Bas XI, 61—75.)

37. Over het onderscheid in samenstelling tusschen arterieel en veneus bloed; bijdrage tot de methode van vergelijkend bloedonderzoek. (Verh. Kon. Akad. v. Wetensch. Dl. I, No. 5, 25 bl. 2.

1893.

38. Über den Einfluß von Säure und Alkali auf die Permeabilität der lebenden Blutkörperchen, nebst einer Bemerkung über die Lebensfähigkeit des defibrinierten Blutes. (du Bois-Reymonds Archiv, Suppl. 1893, 153 bis 157.)

39. Vergleichende Untersuchungen von arteriellem und venösem Blute und über den bedeutenden Einfluß der Art des Defibrinierens auf die Resultate von Blutanalysen. (du Bois-Reymonds Archiv, Suppl. 1893, 157—175 und A. P., April 1893, 332—339.)

40. Onderzoekingen over de lymph. (Verh. kon. Akad. v. W. Deel III, No. 3, 37.)

41. De lymphproductie bij spierarbeid. (Voordracht op het 4de Nederl. Natuur- en Geneeskundig Congres.)

42. Untersuchungen über die Lymphbildung, insbesondere bei Muskelarbeit. (Zeitschr. f. Biol. 33, 143—178.)

43. Een lymphdrijvende bacterie. (Verh. Kon. Akad. v. Wetensch. Deel III, No. 5, 27.)

44. Hydrops von mikrobiellem Ursprung; Beitrag zur Physiologie und Pathologie des Lymphstroms. (Zieglers Beitr. z. pathol. Anat. u. z. allg. Pathol. 14, 443—400, und Ned. Tijdschr. voor Gen. (2) 853—891; auch Deutsch. Zeitschr. f. Tiermed. u. vergleich. Pathol. 22, 113—127, und Deutsch. Med. Wochenschr. Nr. 42.)

45. Die physiologische Kochsalzlösung und die Volumsbestimmung der körperlichen Elemente im Blute. (Centralbl. f. Physiol. 17. Juni.)

1894.

46. Bacterium lymphagogon. (La Flandre médicale 1, 177 bis 194.)

47. Die Volumbestimmung der körperlichen Elemente im Blute und die physiologische Kochsalzlösung. Antwort an Herrn Max Bleibtreu. (Centralbl. f. Physiol. 27. Januar.)
48. Sur la détermination de la tension osmotique de liquides albumineux au moyen de l'abaissement du point de congélation. (Rec. des Travaux chimiques des Pays-Bas 13, 67—79, und Centralbl. f. Physiol. 24. Februar; auch Revue de Médecine Novembre 1895.)
49. Over den invloed der ademhaling op de verplaatsing van suiker, vet en eiwit. (Verh. Kon. Akad. v. Wetensch. 3, No. 10, 36 Seiten.)
50. Die Bewegung und Oxydation von Zucker, Fett und Eiweiß unter dem Einfluß des respiratorischen Gaswechsels. (du Bois-Reymonds Archiv 419—440 und Revue de méd., Dezember.)
51. Opmerkingen over hydrops, naar aanleiding van Starlings Onderzoekingen. (Ned. Tijdschr. v. Geneesk. (2) 1133 bis 1141.)
52. La pression osmotique dans les sciences médicales. (La Flandre médicale 1, 1—21, und Vortrag im Provinciaal Utrechtsch Genootschap voor Kunsten en Wetenschappen am 10. Juni 1894; auch Virchows Archiv 140, 503—523, 1895.)

1895.

53. Über die Regelung der osmotischen Spannkraft von Flüssigkeiten in Bauch- und Pericardialhöhle. Ein Beitrag zur Kenntnis der Resorption. (Verh. Kon. Akad. v. Wetensch. 4, Nr. 6, 96 Seiten, und du Bois-Reymonds Archiv 281—363; auch in La Belgique médicale 2, Nr. 31.)
54. Zur Lehre der Lymphbildung. (du Bois-Reymonds Archiv 364—377.)
55. Die osmotische Spannkraft des Blutserums in verschiedenen Stadien der Verblutung. (Centralbl. f. Physiol. 15. Juni.)
56. Über die Formveränderungen der roten Blutkörperchen in Salzlösungen, Lymph- und verdünntem Blutserum. (Virchows Archiv 141, 230—238.)
57. Stauungshydrops und Resorption. (Virchows Archiv 141,

398—401, und La Belgique médicale 2, No. 35; auch Ned. Tijdschr. v. Gen. (2) 459—462.)

58. De resorptie van vochten in buik- en pericardiaalholte, benevens een paar opmerkingen over intraperitoneale transfusie. (Ned. Tijdschr. v. Gen. (2) 345—358.)

59. Ein Apparat, welcher gestattet, die Gesetze von Filtration und Osmose strömender Flüssigkeiten bei homogenen Membranen zu studieren. (Verh. Kon. Akad. v. Wetensch. 4, No. 4, 16 Seiten, und du Bois-Reymonds Archiv 1896, 36—49; auch Archives Néerlandaises 30, 353—369.)

60. Über Resorption aus der Peritonealhöhle; Bemerkungen zu dem Aufsatze des Herrn Dr. W. Cohnstein. (Centralbl. f. Physiol. 2. November.)

1896.

61. Myelite chronique, consécutive à un trouble dans le développement de la moëlle épinière. Revue de Médecine, janvier und Deutsche Zeitschr. f. Tiermed. u. vergleich. Pathol. 21, 104—110.)

62. Über den Einfluß des intraabdominalen Druckes auf die Resorption in der Bauchhöhle; 3. Beitrag zur Lehre von der Resorption. (du Bois-Reymonds Archiv 302—338 und Verh. Kon. Akad. v. Wetensch. 5, No. 1; auch La Belgique médicale 4, No. 20.)

63. Over de permeabiliteit der roode bloedlichaampjes. Opmerkingen naar aanleiding van een opstel van Dr. G. Grijns. (Ned. Tijdschr. v. Gen. (1) 201—213.)

64. Über die Bedeutung von Atmung und Peristaltik für die Resorption im Dünndarm. (Centralbl. f. Physiol. 25. Januar und Versl. Kon. Akad. v. Wetensch. 25. Januar; auch La Belgique médicale 4, Nr. 21.)

65. Streptococcus peritonitidis equi; en collaboration avec M. J. A. Klauwers. (Centralbl. f. Bakt., Parasitenk. u. Infektionskrankh. 19, Nr. 22—23.)

66. La détermination du point de congélation du lait, comme moyen de découvrir et d'évaluer la dilution par l'eau. (Rec. Travaux chimiques des Pays-Bas 14, 349—356, und Ned. Tijdschr. v. Pharmacie en Toxicologie 7 Seiten; auch Zeitschr. f. Fleisch- u. Milchhygiene 6, 167—170.)

67. Bacillus cellulaeformans. Zur Bakteriologie der Fleischvergiftungen (unter Mitwirkung von Herrn N. H. Wolf). (Zeitschr. f. Fleisch- und Milchhygiene 6, 186—190 und Ned. Tijdschr. v. Geneesk. (2), 161—166.)
68. Über den Einfluß des intraintestinalen Druckes auf die Resorption im Dünndarme. 4. Beitrag zur Kenntnis der Resorption (du Bois-Reymonds Arch., 428—465 und Verhdl. kon. Akad. v. Wetensch., Deel V Nr. 4).
69. Over den invloed der ademhalig op het volume en den vorm der bloedlichaampjes. (Versl. kon. Akad. v. Wetensch. 28. November.)

1897.

70. Einfluß des respiratorischen Gaswechsels auf das Volum und die Form der roten Blutkörperchen (Zeischr f. Biol. 35, 252—279).
71. Einfluß des respiratorischen Gaswechsels auf das Volum der weißen Blutkörperchen. (Ibid. 280—286 und Belgique médicale 5, Nr. 8, 12.)
73. Zur Lymphbildungsfrage (du Bois-Reymonds Archiv 132—137.)
74. Die Geschwindigkeit der Osmose. Lazarus Barlows „Initial rate of osmosis“ (du Bois-Reymonds Archiv 137—144).
75. Über den Einfluß geringer Quantitäten Säure und Alkali auf das Volum der roten und weißen Blutkörperchen. (Versl. kon. Akad. v. Wetensch. 27. Februar und du Bois-Reymonds Archiv, Jahrg. 1898, 31—46.)
76. Een quantitatieve methode voor de bepaling van den schadelijken invloed van bloed- en weefselvocht op bacteriën. (Versl. kon. Akad. v. Wetensch. 21 April.)
77. Influence favorable de la stase veineuse et de l'inflammation dans la lutte de l'organisme contre les bactéries. (La Belgique médicale 2, Nr. 34 und Ned. Tijdschr. v. Veeartsenijkunde, 20; auch Versl. kon. Akad. v. Wetensch. 21 April und Ned. Tijdschr. v. Geneesk. (2), Nr. 10, Deutsche med. Wochenschr. Nr. 49 und Centralbl. f. Bakt. 22, 14—15.)
78. Ein neues Verfahren zur Bestimmung der osmotischen Spannkraft des Blutserums. (Centralbl. f. Physiol. 26. Juni.)
79. Die Gefrierpunktserniedrigung des lackfarbenen Blutes und

das Volum der Blutkörperchenschatten. (du Bois-Reymonds Archiv, 406—497.)

80. Over den invloed van veneuse stuwing op infectieuse processen. Opmerkingen naar aanleiding van een opstel van Prof. Dr. C. H. Spronck. (Ned. Tijdschr. v. Geneesk. (2), Nr. 13.)

81. Over de permeabiliteit van roode bloedlichaampjes. Antwoord aan Dr. C. Eykman. (Ned. Tijdschr. v. Geneesk. (2), 28.)

82. Over den invloed van koolzuur op infectieuse processen. Antwoord aan Prof. Spronck. (Ned. Tijdschr. v. Geneesk. (2), 719.)

83. Eine Methode zur Trennung und quantitativen Bestimmung des diffusibelen und nicht diffusibelen Alkali in serösen Flüssigkeiten. (Verh. kon. Akad. v. Wetensch. Dl. VI, Nr. 1, 34 und du Bois-Reymonds Archiv, Jahrg. 1808, 1—30.)

1898.

84. Het tegenwoordig standpunt van de leer der natuurlijke immuniteit. (Ned. Tijdschr. v. Veeartsenijkunde 25, 149 bis 185.)

85. Over den invloed van veneuse stuwing op de vernieling van miltvuur-virus in het onderhuidsche bindweefsel. (Versl. kon. Akad. v. Wetensch. 23 April.)

86. De invloed van zoutoplossingen op het volume van dierlijke cellen. Tevens een bijdrage tot de kennis harer structuur. (Versl. kon. Akad. v. Wetensch 28 Mei.)

87. Über den Einfluß von Salzlösungen auf das Volum tierischer Zellen. Erste Mitteilung. (Weiße Blutkörperchen, rote Blutkörperchen, Spermatozoa.) (du Bois-Reymonds Archiv, 317—341.)

88. De invloed van veneuse stuwing op microben. (Ned. Tijdschr. v. Geneesk. (2), Nr. 3, 89—101.)

89. Influence de la pression extérieure sur la résistance des globules rouges. (L'intermédiaire des biologistes 1, Nr. 19.)

90. Internationaal Physiologencongres, gehouden te Cambridge, 22—26 Aug. (Ned. Tijdschr. v. Geneesk. (2), 817—822, 873—876, 914—919.)

1899.

91. Über den Einfluß von Kohlensäure, bezw. von Alkali auf das antibakterielle Vermögen von Blut- und Gewebsflüssigkeit, mit besonderer Berücksichtigung von venöser Stauung und Entzündung. (Virchows Archiv 156, 329 bis 383.)
92. Über den Einfluß von Salzlösungen auf das Volum tierischer Zellen. Zugleich ein Versuch zur quantitativen Bestimmung deren Gerüstsubstanz. (2. Mitteilung) (Darm, Trachea, Harnblasen- und Oesophagusepithel.) (du Bois-Reymonds Archiv, Supp. 1899, 431—476 und Versl. kon. Akad. v. Wetensch. 25 Maart, in englischer Übersetzung: The influence of salt solutions on the volume of animal cells. Second communication; auch Ned. Tijdschr. v. Geneesk. (2), 1231—1247.)
93. De resorptie van vet en zeep in den dikken en dunnen darm. (Versl. kon. Akad. v. Wetensch. 25 November. Englisch: The resorption of fat and soap in the large and the small intestine (12 Seiten).
94. Über das Verhalten des Blasenepithels gegenüber Harnstoff. (du Bois-Reymonds Archiv, 9—22.)

1900.

95. Versuche über die Resorption von Fett und Seife im Dickdarm. (du Bois-Reymonds Archiv, 433—465, und Ned. Tijdschr. v. Geneesk. (1), 727—737; auch Belgique médicale Nr. 1, 14 Seiten.)
96. Over het resorbeerend vermogen van den blaaswand in het bijzonder voor ureum. (Ned. Tijdschr. v. Geneesk. (1), 298—315.)
97. Lipolytisch ferment in ascites-vloeistof van een mensch. (Versl. kon. Akad. v. Wetensch. 27 Jan.; englisch: Lipolytic ferment in ascites liquid of man, remarks on the resorption of fat and on the lipolytic function of the blood, (ibid., und du Bois-Reymonds Archiv, 544—533; auch Ned. Tijdschr. v. Geneesk. (1), 1205—1213.)
98. Over het weerstandsvermogen der roode bloedlichaampjes. (Versl. kon. Akad. v. Wetensch. 31 Maart; englisch: On the resisting power of the red corpuscles, ibid.)

99. Sur la résistance des globules rouges. Analyse des phénomènes et propositions pour mettre de l'unité dans les évaluations. (Journ. de physiol. et de pathol. générale, (2. Novembre, Nr. 6.)

100. Over het doorlatingsvermogen der roode bloedlichaampjes voor NO_3- en SO_4-ionen. (Versl. kon. Akad. v. Wetensch. 27. October; englisch: On the permeability of the red bloodcorpuscles for NO_3- and SO_4-ions. Ibid. 4 Seiten.)

101. Untersuchung des Harns mittels combinirter Anwendung von Gefrierpunkt- und Blutkörperchenmethode. (Centralbl. f. inn. Med., Nr. 12, 12 Seiten, und Ned. Tijdschr. v. Gen. 1, 830—850.

102. Sind es ausschließlich die Chylusgefäße, welche die Fettresorption besorgen? (Engelmanns Archiv, 554—560).

1901.

103. De physische scheikunde in hare beteekenis voor de geneeskundige wetenschappen. Rede, uitgesproken bij de aanvaarding van het hoogleraarsambt aan de Rijksuniversiteit te Groningen, op 28. September, (Groningen, J. B. Wolters, 27 Seiten).

104. Over troebele zwelling. (Feestbundel voor Prof. S. Talma, 349—358, Haarlem, Erven Bohn).

1902.

105. Mit G. A. van Lier. Die Durchlässigkeit von roten Blutkörperchen für die Anionen von Natriumsalzen. (Engelmanns Archiv, 492—532).

106. Mit H. J. van der Schroeff. Die Permeabilität von Leukocyten und Lymphdrüsenzellen für die Anionen von Natriumsalzen. (Engelmanns Archiv, Suppl, 121—165.)

107. Het gedrag van witte bloedlichaampjes tegenover cyaankalium. Bijdrage tot de kennis der celpermeabiliteit. (Herinneringsbundel Prof. Rosenstein, Leiden, Eduard Ydo, 12 Seiten.)

108. Mit E. Hekma. Over darmsap van den mensch. (Versl. Kon. Akad. v. Wetensch, 29 Maart; englisch: On the intestinal piece of man. Ibid. und Journ. de Physiol. et de Pathol. générale 4, Nr. 5).

109. Osmotischer Druck und Ionenlehre in den medizinischen

Wissenschaften. Zugleich Lehrbuch pysikalisch-chemischer Methoden. Bd. 1. Physikalisch-chemische Grundlagen und Methoden. Die Beziehungen zur Physiologie und Pathologie des Blutes. Mit 23 Abbildungen im Text. (Wiesbaden, J. F. Bergmann, 539 Seiten.)

1903.

110. Over darmsap van den mensch. (Ned. Tijdschr. v. Gen. 1, Nr. 23 und Journ. de Physiol. et de Pathol. générale, Janvier 1904.)

1904.

111. Osmotischer Druck und Ionenlehre, usw. Bd. 2. Circulierendes Blut, Lymphbildung, Hydrops, Resorption, Harn und sonstige Secrete, electrochemische Aciditätsbestimmung, Reactionsverlauf. Mit 2 Tafeln und 28 Abbildungen im Text. Wiesbaden, J. F. Bergmann. 516 Seiten.
112. Osmotischer Druck und Ionenlehre, usw. Bd. 3. Isolierte Zellen, Colloïde und Fermente, Muskel- und Nervenphysiologie, Ophthalmologie, Geschmack, Embryologie, Pharmakologie, Balneologie, Bacteriologie, Histiologie. Mit 1 Tafel und 8 Abbildungen im Text. Wiesbaden, J. F. Bergmann. 508 Seiten.
113. Nieuwere onderzoekingen over Colloïden en haar beteekenis voor de geneeskundige wetenschappen. (Ned. Tijdschr. v. Gen. 1, 889—906 und Archiv f. physik. Med., 1, 83—98.)
114. Action catalytique de l'argent colloïdal dans le sang. Expérienees avec M. J. Hekman. (Archives internationales de Physiologie 1, 145—151.)
115. Die Concentrationsangabe von Lösungen. (Zeitschr. physikal. Chem., 57, 495—497.)

1905.

116. Zur Differenzierung des Blutes (Eiweiß) biologisch verwandter Tierspecies. Eine Erweiterung der üblichen serodiagnostischen Methode. (Deutsche med. Wochenschr. Nr. 6, 5 Seiten.)
117. Gerechtelijk onderzoek van bloed en andere lichaamsvochten. (Tijdschr. voor Strafrecht, 82—90.)
118. Rede, gehalten bei der Promotion von M. H. J. P. Tho-

massen, 21. Juni, (Ned. Tijdschr. v. Veeartsenijkunde 32, Lieferung 10.)

119. Een Methode ter bepaling der osmotische drukking van zeer geringe hoeveelheden vloeistof. (Versl. kon. Akad. v. Wetensch. 28. October, 401—404; englisch: A method for determining the osmotic pressure of very small quantities of liquid. (Ibid.)

120. Orgaantherapie. (Ned. Tijdschr. v. Gen., 1, 1405—1419.)

121. Zur Untersuchung der quantitativen Verhältnisse bei der Praecipitinreaction. (Folia haematologica, 2, Nr. 8.)

1906.

122. Mit J. de Vries. Saccharine en suiker. (Ned. Tijdschr. v. Gen. (1), 762—788.

123. Ibid. 1560—1568.

124. Mit Svante Arrhenius. Over den aard der praecipitine-reactie. On the nature of praecipitin reaction. (Proceedings of the Kon. Akad. v. Wetensch, 27. April.)

125. Eine Methode zur Bestimmung des osmotischen Druckes sehr geringer Flüssigkeitsmengen. (Biochem. Zeitschr. 1, 259—281.)

126. Proeven over het mechanisme der darmresorptie. (Feestbundel voor Prof. C. A. Pekelharing. Ned. Tijdschr. v. Gen. (2). 841—850.)

127. La pression osmotique et la théorie des ions dans les sciences médicales. (Conférences, faites à Anvers. Annales de la société médico-chirurgicale d'Anvers. Livraison de Septembre. 41 Seiten.)

128. De invloed van het hooggebergte op het menschelijk organisme. De Gids, Nr. 11, 13 Seiten.)

1907.

129. Über den Einfluß des Druckes auf die Resorption im Unterhautbindegewebe. Nach Versuchen von Dr. C. Thomassen. (Biochem. Zeitschr. 3, 359—388.)

130. De invloed van het hoogland op het menschelijk organisme. (52 Seiten, Groningen, Scholtens & Zoon.)

131. Mit E. Hekma. Over phagocytose. Englisch: Quantitative researches on phagocytosis. A contribution to the

biology of phagocytes. (Proceedings of the kon. Akad. v. Wetensch. 29 Juni.)

132. Über den Unterschied in der Permeabilität von Membranen in entgegengesetzten Richtungen. (Vortrag, gehalten auf dem internationalen Physiologencongress in Heidelberg, 13. Aug.)

133. Die Anwendung der Centrifugalkraft im physiologischen Laboratorium. Quantitative Analysen mittels Volumbestimmung des Sedimentes. (Ibid.)

134. Een methode om enzymen en proenzymen uit de mucosa van het spijsverteringskanaal te extraheeren en de topische verbreiding er van vast te stellen. Englisch: A method to extract enzymes and pro-enzymes from the mucous membrane of the digestive tube and to establish the topic distribution of them. (Proceedings kon. Akad. v. Wetensch. 26. October.)

135. Mit E. Hekma. Quantitative Studien über Phagocytose. 2. Mitteilung. (Biochem. Zeitschr. 7, 102—116.)

136. Phagocytose. Vortrag gehalten in der allgemeinen Sitzung der Versammlung flämischer Naturforscher und Ärzte zu Mechelen. (Ned. Tijdschr. v. Gen. (2) 1670—1603.)

137. Einleitung in die ,,Cours de physiologie molêculaire par Léo Errera. Leçons recueillies et rédigées par H. Schouteden. Bruxelles 1907.

1908.

138. Histoire et développement de la chimie physique biologique. (Revue de Chimie physique biologique et de physiologie générale. I.)

139. Isotonie. (Dictionnaire de Physiologie de Charles Richet.)

140. Een methode van koude injectie van organen voor histologische doeleinden. (Versl. kon. Akad. v. Wetensch. 28 Maart.)

Ein paar Bemerkungen über Fibrinferment.

Von

C. A. Pekelharing, Utrecht.

Aus den 1905 von Morawitz[1]) und 1907 von Leo Loeb[2]) gegebenen Zusammenstellungen geht hervor, daß die, auch in den letzten Jahren von mehreren Forschern mit Kraft fortgesetzten Bemühungen das verwickelte Problem der Gerinnung des Blutes noch keineswegs zu der wünschenswerten Klarheit gebracht haben.

Eine der Schwierigkeiten, auf welche man bei der Bearbeitung der diesen Gegenstand betreffenden Literatur stößt, liegt darin, daß vielfach aus gewissen Beobachtungen auf die Existenz von Gerinnung verursachenden, fördernden, hemmenden oder verhindernden Stoffen geschlossen wird, und daß diese hypothetischen Stoffe, je nach der Ansicht des Beobachters, mit Namen belegt werden, obgleich vorläufig gar keine Aussicht da zu sein scheint, die supponierte Existenz tatsächlich nachzuweisen. So sind zahlreiche neue Namen entstanden, welche, statt dem Zweck, einer scharfen Begriffsbestimmung zu entsprechen, vielmehr verwirrend wirken und es dem Forscher schwierig machen, bei der ohnehin schon nicht leicht zu bewältigenden Literatur, die Arbeit anderer genau zu verfolgen und in sich aufzunehmen.

Daß in gewissen Fällen wenigstens neue Stoffe ohne Notwendigkeit supponiert worden sind, werde ich mit ein paar Beispielen nachzuweisen versuchen.

Bei einigen schon vor längerer Zeit von mir beschriebenen, die Gerinnung betreffenden Versuchen, bin ich von der Auf-

---

[1]) Ergebn. d. Physiol. 4, 307.

[2]) Biochem. Centralbl. 6, 829, 889.

fassung ausgegangen, daß es nötig war, die verschiedenen bei der Gerinnung des Blutes in Betracht kommenden Faktoren so viel wie möglich gesondert zu erforschen und dazu für die Gerinnungsversuche vor allem nicht nur, statt Blutplasma oder andere mehr oder weniger unbekannte Stoffe enthaltende „proplastische" Lösungen, möglichst nach Hammarsten gereinigtes Fibrinogen, sondern auch möglichst gereinigtes Fibrinferment zu gebrauchen. Auf diesem Wege weiter arbeitend, gelangte ich zu dem Schluß, das der von Alexander Schmidt erst Fibrinferment, später Thrombin genannte Stoff aus der Einwirkung von Kalksalzen auf Nucleoproteide hervorgeht und daß in dieser Weise auch der von Wooldridge hervorgehobene Einfluß von Gewebsextrakten auf die Gerinnung des Blutes erklärt werden kann.

Wird aber die Wirkung von Gemengen wie Blutserum oder Gewebsextrakt auf Fibrinogenlösungen oder sogar auf durch mitunter eingreifende Behandlung gegen Gerinnung geschütztes Blutplasma geprüft, so treten neue Faktoren ins Spiel, deren Bedeutung, so viel wie möglich ist, nachgeforscht werden muß, bevor neue Hypothesen aus den Beobachtungen abgeleitet werden dürfen.

Schon A. Schmidt fand — und alle späteren Forscher haben diesen Befund bestätigen können —, daß Blutserum beim Stehen an der Luft allmählich die Fähigkeit, eine Fibrinogenlösung gerinnen zu machen, verliert. Es gelang Schmidt aber die Wirksamkeit von dialysiertem, unwirksam gewordenem Serum wiederherzustellen. Dazu wurde es mit verdünnter Natronlauge versetzt und nach $^1/_4$ bis $^1/_2$ Stunde wieder neutralisiert. Bei Pferdeserum erhielt er den kräftigsten Erfolg durch Zusatz von 0,15 ccm $^n/_{10}$-Natronlauge auf 1 ccm Serum.[1]) Später teilte er mit, daß durch Stehen geschwächtes Pferdeserum nicht aktiv wurde, wenn zu 1 ccm mit 25 ccm Wasser verdünntem Serum 0,75 ccm $^n/_5$-NaHO hinzugesetzt war, wohl aber wenn zur Verdünnung nicht Wasser, sondern 0,6$^0/_0$ige Kochsalzlösung gebraucht war.[2])

Die Möglichkeit, Blutserum durch vorübergehende Ände-

---

[1]) Zur Blutlehre, Leipzig 1892, S. 210.

[2]) Weitere Beiträge zur Blutlehre, Wiesbaden 1895, S. 66.

rung der Reaktion zu aktivieren, ist von Morawitz näher untersucht worden.[1]) Er fand, daß das geschwächte Serum nicht nur durch Alkali-, sondern auch durch Säurezusatz mit nachfolgender Neutralisation aktiviert wird, daß aber die Alkaliwirkung kräftiger ist als die Säurewirkung.

Ebenso wie Schmidt nimmt Morawitz ohne weiteres an, daß diese Aktivierung des Blutserums einer Neubildung von Fibrinferment zuzuschreiben sei. Da ein Zusatz von Chlorcalcium zu dem geschwächten Serum zwar eine gewisse, aber bei weitem nicht so beträchtliche Verstärkung der Fermentwirkung hervorrief, kommt er zu dem Schluß, daß es zwei verschiedene Mutterstoffe von Fibrinferment gibt, erstens das Zymogen, welches von Kalksalzen in Ferment umgesetzt wird, und zweitens eine Substanz, welche infolge von vorübergehender Berührung mit Alkali oder Säure Ferment liefert. Den von Kalk aktivierbaren Stoff nennt Morawitz α-Proferment, den von Alkali oder Säure aktivierbaren β-Proferment oder auch Metathrombin.[2])

Bei einer Flüssigkeit von so komplizierter Zusammensetzung wie das Blutserum muß aber eine andere Möglichkeit in Erwägung gezogen werden, nämlich diese, daß das Serum kein Zymogen enthält, sondern nur eine einzige Art von Fibrinferment, dessen Wirkung von beim Stehen des Serums an der Luft in immer größerer Menge auftretenden Stoffen gehindert wird.

Ich werde einige Beobachtungen mitteilen, welche zugunsten dieser Möglichkeit sprechen.

Die Wirksamkeit von aktiviertem Serum sinkt schneller herab als diejenige desselben, aber nicht aktivierten Serums. Werden dann beide vorübergehend alkalisch gemacht, so bleibt das schon vorher einmal aktivierte beim andern in seiner Fermentwirkung zurück.

Zum Beispiel:

Von 1 Tag altem Pferdeserum, dessen Wirksamkeit durch $CaCl_2$-Zusatz nicht nennenswert verstärkt wird,

A. 15 ccm vermischt mit 6 ccm $^n/_4$-NaHO, nach 35 Min. mit 6 ccm $^n/_4$-HCl.

[1]) Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 4, 381, 1904.

[2]) Ergebn. d. Physiol. 4, 367.

B. 15 ccm vermischt mit 12 ccm $^{n}/_{8}$-NaCl.

Von beiden unter Zusatz von Thymolkrystallen bei Zimmertemperatur aufbewahrten Flüssigkeiten wird, mit einer reinen Fibrinogenlösung, die Fermentwirkung geprüft.

Sogleich	A	2 ccm	+ 5 ccm	Fibrinogen	gerinnt	in	4	Min.
	B	2 „	+ 5 „	„	„	„	45	„
Nach 1 Tag	A	2 „	+ 5 „	„	„	„	8	„
	B	2 „	+ 5 „	„	„	„	40	„
Nach 2 Tagen	A	2 „	+ 5 „	„	„	„	15	„
	B	2 „	+ 5 „	„	„	„	40	„

Jetzt wird von A und B je 5 ccm vermischt mit 2 ccm $^{n}/_{4}$-NaHO, nach 30 Min. mit 2 ccm $^{n}/_{4}$-HCl.

A	4 ccm	+ 5 ccm	Fibrinogen	gerinnt	in	11	Min.
B	4 „	+ 5 „	„	„	„	3	„

Was von den ursprünglichen Flüssigkeiten A und B noch übrig ist, wird noch einige Tage aufbewahrt. 8 Tage nach dem Aktivieren verursacht B dreimal schneller Gerinnung einer Fibrinogenlösung als A.

Bei der Morawitzschen Auffassung wäre dies durch die Annahme zu erklären, daß beim Stehen an der Luft das α-Ferment allmählich seine Wirkung verliert, das β-Proferment aber unverändert bleibt. Alkalizusatz veranlaßt dann die Entstehung von β-Ferment, das aber, nach Morawitz, nach dem Neutralisieren noch schneller als das α-Ferment wirkungslos wird. Der Zusatz von Natronlauge veranlaßt aber auch Verlust von Ferment. Eine in der von Schmidt angegebenen Weise mittels Alkohol aus Blutserum bereitete Fermentlösung wird durch Zusatz von Natronlauge und nachfolgende Neutralisation nicht nur nicht verstärkt, sondern entschieden geschwächt. Eine solche Lösung enthält, nach Morawitz, sowohl α- als β-Ferment, aber kein Proferment. Das schon einmal aktivierte Serum hat also, zur Lieferung von β-Ferment, einen beträchtlichen Teil seines Proferments abgeben müssen und hat dabei, infolge der Alkaliwirkung, einen Teil des schon vorhandenen Ferments verloren. Beim Stehen an der Luft verliert es seine Wirsamkeit schneller als das unveränderte Serum B, welches in diesem Fall seine Wirksamkeit freilich besser wie gewöhnlich behielt. Jetzt konnte, durch Wiederholung des Alkalizusatzes, A zwar noch wieder verstärkt werden, mit nicht so

gutem Erfolg aber als das im vollen Besitz seines Proferments gebliebene Serum B.

Der Unterschied wird größer, wenn das Serum durch Erwärmen auf Körpertemperatur beträchtlich geschwächt ist. Wiederholt habe ich gefunden, daß es dann, nach Alkalizusatz und nachfolgender Neutralisation, statt aktiviert zu sein, seine Wirksamkeit völlig verloren hatte.

Von 6 Tagen unter Thymolzusatz bei Zimmertemperatur aufbewahrtes Rindsserum wird ein Teil 4 Stunden auf 38° C erwärmt.

A 5 ccm bei Zimmertemperatur aufbewahrtes Serum + 4 ccm $^{n}/_{8}$-NaCl.

B 5 cm erwärmtes Serum + 4 ccm $^{n}/_{8}$-NaCl.

C 5 ccm erwärmtes Serum + 2 ccm $^{n}/_{4}$-NaHO, nach 30 Min. + 2 ccm $^{n}/_{4}$-HCl.

1 ccm A mit 3 ccm Fibrinogen in 10 Min. geronnen.
1 „ B „ 3 „ „ am folgenden Morgen geronnen.
1 „ C „ 3 „ „ gerinnt nicht.

Dauert die Einwirkung des Alkali etwas länger als eine halbe Stunde, so kann sogar noch ziemlich kräftig wirksames Serum dadurch inaktiv gemacht werden.

Von 2 Stunden lang auf 38° C erwärmtem Rinderserum wird vermischt:

A 5 ccm mit 2 ccm $^{n}/_{4}$-NaHO, nach 45 Min. mit 2 ccm $^{n}/_{4}$-HCl.

B 5 ccm mit 4 ccm $^{n}/_{8}$-NaCl.

2 ccm von A mit 3 ccm Fibrinogen gerinnt nicht.
2 „ „ B „ 3 „ „ „ in 28 Min.

Auch dies wäre bei der Morawitzschen Auffassung noch wohl zu erklären, zwar nicht ohne eine neue Hypothese, daß nämlich infolge des Erwärmens auf Körpertemperatur nicht nur Ferment, sondern auch β-Proferment verschwindet. Außerdem ist es nicht ohne Schwierigkeit, anzunehmen, daß Alkali die Bildung von Ferment verursacht, indem es sich eben für Ferment so schädlich zeigt.

Vielmehr auf der Hand liegend scheint mir die zweite, soeben genannte Möglichkeit. Dabei wird angenommen, daß das Serum Stoffe enthält, welche der Gerinnung des Fibrinogen entgegenwirken und beim Stehen an der Luft, zumal bei Körper-

temperatur, zunehmen, durch Einwirkung von Alkali oder von Säure aber unwirksam gemacht werden. Die Schwächung der Fermentwirkung des Serums beim Stehen bei Zimmertemperatur und in stärkerem Maße bei Körpertemperatur würde also einerseits von der Zunahme dieser Stoffe, andererseits von dem Verschwinden von Ferment herrühren.

Daß eine Schmidtsche Fibrinfermentlösung bei Körpertemperatur ihre Wirksamkeit viel schneller verliert als bei 10 bis 15° C, ist wohl von jedem, der sich mit Untersuchungen über diesen Stoff beschäftigt hat, beobachtet worden. Man muß also wohl annehmen, daß bei dem im Blutserum gelösten Ferment dasselbe stattfindet. Es läßt sich aber auch nachweisen, daß das Serum, zumal wenn es einige Zeit auf Körpertemperatur erwärmt worden ist, die Wirkung des Fibrinferments hindernde Bestandteile enthält.

Zum Beispiel:

Von frischem Rinderserum ein Teil auf 38° C 16 Stunden erwärmt.

1 ccm nicht erwärmtes Serum mit 5 ccm Fibrinogen gerinnt in 30 Min.

1 ccm erwärmtes mit 1 ccm nicht erwärmtem Serum und 5 ccm Fibrinogen gerinnt in 50 Min.

A frisches Serum.

B 9 Tage altes Serum.

C 9 Tage altes Serum 18 Stunden auf 38° C erwärmt.

1 ccm von A +	3 ccm	Fibrinogen	gerinnt	in	25 Min.
1 „ „ B +	3 „	„	„	„	62 „
1 „ „ C +	3 „	„	„	„	11 Std.
1 „ „ A + 1 ccm von C +	3 „	„	„	„	45 Min.

Das sogenannte Aktivieren des Serums hebt aber diese hindernde Wirkung wieder auf, auch dann, wenn infolge der schädigenden Einwirkung des Alkali auf das Ferment, das Serum das Vermögen, Gerinnung hervorzurufen, nicht wieder erhält.

Rinderserum 2 Std. mit Thymol auf 38° C erwärmt.

A 5 ccm Serum + 2 ccm $^{n}/_{4}$-NaHO, nach 30 Min. + 2 ccm $^{n}/_{4}$-HCl.

B 5 ccm Serum + 4 ccm $^{n}/_{8}$-NaCl.

3 ccm Ferment (Schmidt) + 2 ccm $^n/_8$-NaCl + 5 ccm Fibrinogen gerinnt in 35 Min.
3 ccm Ferment (Schmidt) + 2 ccm A + 5 ccm Fibrinogen gerinnt in 20 Min.
3 ccm Ferment (Schmidt) + 2 ccm B + 5 ccm Fibrinogen gerinnt in 55 Min.

Rinderserum 18 Stunden mit Thymol auf 38° C erwärmt.

A 5 ccm Serum + 2 ccm $^n/_4$-NaHO, nach 30 Min. + 2 ccm $^n/_4$-HCl.

B 5 ccm Serum + 4 ccm $^n/_8$-NaCl.

3 ccm Ferment (Schmidt) + 2 ccm $^n/_8$-NaCl + 5 ccm Fibrinogen gerinnt in 30 Min.
3 ccm Ferment (Schmidt) + 2 ccm A + 5 ccm Fibrinogen gerinnt in 30 Min.
3 ccm Ferment (Schmidt) + 2 ccm B + 5 ccm Fibrinogen gegerinnt nicht.
3 ccm Wasser + 2 ccm A + 5 ccm Fibrinogen gerinnt nicht.

Mehrere Male, jedoch nicht ohne Ausnahmen, fand ich, daß das gerinnungswidrige Vermögen von Serum, welches lange bei Zimmertemperatur aufbewahrt oder einige Stunden auf Körpertemperatur erwärmt worden war, nach kräftiger Dialyse abnahm oder sogar verschwand. Auf verschiedene Weisen habe ich versucht, die Gerinnung hindernden Stoffe aus auf Körpertemperatur erwärmtem Serum zu isolieren, ohne aber dabei meinen Zweck zu erreichen. Öfters hatte das erwärmte Serum, auch nach der Behandlung mit Alkali, eine fibrinolytische Wirkung, so daß die Gerinnung, wenn sie auch nicht mehr durch dieses Serum verzögert wurde, dennoch unvollkommen blieb und das Gerinnsel nach einiger Zeit sich wieder löste.

Der gerinnungshemmende Einfluß von Blutserum ist von Morawitz schon nachgewiesen worden. Dieser Forscher kommt aber zu dem Schluß, daß dieser Einfluß beim Stehen vom Serum an der Luft geringer wird.[1] Es scheint mir aber, daß die mitgeteilten Versuche diesen Schluß nicht genügend rechtfertigen. Zu je 15 ccm Fibrinogenlösung und 10 Tropfen aktiviertem Serum wurden hinzugesetzt: a) 5 ccm NaCl-Lösung,

[1]) Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 4, 416.

b) 5 ccm frisches, nicht aktiviertes Serum und c) 5 ccm 5 Tage altes Serum; a war nach 20 Min., b nach $2^1/_2$ Stunde, c nach etwa 1 Stunde geronnen. Dabei wird aber die Wirkung, welche das 5 Tage alte Serum in frischem Zustand besaß, nicht erwähnt. Der Unterschied zwischen dem einen Serum und dem anderen ist zu groß für einen unmittelbaren Vergleich. Es ist nicht ohne weiteres anzunehmen, daß das von Morawitz im zitierten Versuch gebrauchte, 5 Tage alte Serum nicht früher ein geringeres gerinnungshemmendes Vermögen gehabt haben wird.

Ich glaube also aus meinen Versuchen folgern zu dürfen, daß die Annahme, daß das Blutserum neben dem Fibrinferment noch irgend ein Proferment enhält, nicht begründet ist. Die Möglichkeit, Blutserum mittels Alkali zu „aktivieren", kann durch die Entfernung von Stoffen, welche die Gerinnung hindern, erklärt werden, während der schädliche Einfluß von Alkali und von längerem Aufbewahren bei neutraler Reaktion auf das Fibrinferment die Erklärung gibt, daß das „Aktivieren" nicht beliebig oft wiederholt werden kann.

Meine zweite Bemerkung betrifft jene Bestandteile von Gewebsextrakten, welche, mit Kalksalzen in Berührung gekommen, imstande sind, Fibrinogen gerinnen zu machen, die Koaguline von Loeb, welche ich als Nucleoproteide betrachten zu dürfen glaube.

Einige Forscher nehmen an, daß diese Bestandteile durch Behandlung mit Kalksalzen noch keine mit dem Fibrinferment gleichzustellende Substanz liefern, dazu aber noch einen anderen Bestandteil des Blutsplasmas oder des Blutserums brauchen.

Auch in dieser Hinsicht hat insbesondere Morawitz seine Ansicht genau formuliert.[1]) Gewebsextrakte enthalten, nach Morawitz, eine Substanz, Thrombokinase, welche mit Hilfe von Kalksalzen aus einem, von ihm Thrombogen genannten Bestandteil des Blutplasmas, Thrombin, Fibrinferment bildet.

Diese Hypothese ist aus dem Befund abgeleitet, daß es nicht immer gelingt, eine Fibrinogenlösung durch Zusatz von Gewebsextrakt, auch in Gegenwart von Kalksalzen, zur Gerinnung zu bringen. Insbesondere war dies der Fall mit

---

[1]) Arch. f. klin. Med. 79, 1 und Ergebn. d. Physiol. 4, 371.

Gänseleberextrakten, welche doch die Gerinnung von Blutplasma der Gans und von anderen Tieren, wenn wenigstens die Kalksalze daran nicht entzogen waren, kräftig förderten.

Die Annahme von zwei neuen Stoffen, Thrombokinase und Thrombogen, deren Existenz in keiner anderen Weise nachgewiesen worden ist, scheint mir auf diesem Grund nicht gerechtfertigt.

Im allgemeinen verursachen mit Chloroformwasser bereitete Extrakte von allerhand Organen, in Gegenwart von Kalksalzen in nicht zu großer Menge, ganz sicher Gerinnung von möglichst gereinigten Fibrinogenlösungen. Und ohne Ausnahme gelingt es meiner Erfahrung nach, daraus durch Behandlung mit Essigsäure Nucleoproteide darzustellen, welche, mittels Alkali bis zur neutralen Reaktion in Wasser gelöst, mit Hilfe von Kalk Fibrinogen gerinnen machen. Hinsichtlich ihrer Wirkung auf Fibrinogen unterscheiden diese Stoffe sich nicht von dem Fibrinferment des Blutserums, auch nicht in bezug auf den schädlichen Einfluß von Erwärmen auf Körpertemperatur und von Alkali.

300 g Milzpulpa des Rindes wird mit 600 ccm Chloroformwasser angerührt, am folgenden Tage zentrifugiert. Die Flüssigkeit durch zusammengepreßten Brei von Filtrierpapier filtriert. Ein Teil des Filtrats 16 Stunden auf 38° C erwärmt.

1 ccm des Filtrats + 2 Tr. $CaCl_2$ 1% + 5 ccm Fibrinogen gerinnt in 25 Min.

1 ccm des erwärmten Filtrats + 2 Tr. $CaCl_2$ 1% + 5 ccm Fibrinogen gerinnt in 4 Stunden.

Ein Teil des Filtrats mit Essigsäure angesäuert, zentrifugiert. Der Niederschlag mittels sehr wenig Kalilauge in Wasser gelöst, wieder mit Essigsäure ausgefällt und zentrifugiert. Der Niederschlag wieder in verdünnter Kalilauge bis zu neutraler Reaktion gelöst. Ein Teil dieser Lösung 3 Stunden auf 38° C erwärmt.

1 ccm Nucleoproteidlösung nicht erwärmt + 2 Tr. 1% $CaCl_2$ + 3 ccm Fibrinogen, Gerinnungszeit 20 Min.

1 ccm Nucleoproteidlösung erwärmt + 2 Tr. 1% $CaCl_2$ + 3 ccm Fibrinogen, Gerinnungszeit 45 Min.

Von der erwärmten Nucleoproteidlösung je 5 ccm vermischt.

A mit 2 ccm $^{n}/_{4}$-NaHO, nach 30 Min. mit 2 ccm $^{n}/_{4}$-HCl.
B mit 4 ccm $^{n}/_{8}$-NaCl.

2 ccm von A + 2 Tr. 1% $CaCl_2$ + 3 ccm Fibrinogen, nach 24 Stunden nicht geronnen.

2 ccm von B + 2 Tr. 1% $CaCl_2$ + 3 ccm Fibrinogen, nach 40 Min. geronnen.

Wenn ein Gewebsextrakt, auch in Gegenwart von Kalksalzen, eine Fibrinogenlösung nicht oder erst nach längerer Zeit gerinnen macht, so darf daraus noch nicht gefolgert werden, daß dasselbe gerinnungserregendes Enzym nicht oder nur in ganz geringer Menge enthält. Die Möglichkeit, daß das Extrakt auch gerinnungshemmende Stoffe enthält, darf nicht außer Betracht gelassen werden. Daß diese Möglichkeit tatsächlich verwirklicht sein kann, geht aus dem folgenden Beispiel hervor.

Die Leber eines soeben getöteten Kaninchens wird durch Einspritzen von 0,9% Kochsalzlösung möglichst von Blut befreit, dann zerhackt und mit Wasser, unter Zusatz von einigen Tropfen Chloroform, verrieben. Am folgenden Tag wird die Flüssigkeit abzentrifugiert. Ein Teil der noch ein wenig trüben Flüssigkeit wird durch zusammengepreßten Brei von Filtrierpapier abgesaugt. 120 ccm des nur durch die Gegenwart von Glykogen noch opalescierenden Filtrats wird mit Essigsäure angesäuert. Der Nucleoproteidniederschlag wird abzentrifugiert und unter Zusatz von Natronlauge bis zu neutraler Reaktion in 120 ccm Wasser gelöst.

2 ccm der zentrifugierten Flüssigkeit + 2 Tr. 1% $CaCl_2$ + 5 ccm Fibrinogen gerinnt in 35 Min.

2 ccm der filtrierten Flüssigkeit + 2 Tr. 1% $CaCl_2$ + 5 ccm Fibrinogen gerinnt in 20 Min.

2 ccm der Nucloproteidlösung + 2 Tr. 1% $CaCl_2$ + 5 ccm Fibrinogen gerinnt in 14 Min.

Das Leberextrakt enthielt also gerinnungshemmende Stoffe. Die kürzere Gerinnungszeit bei Anwendung der Nucleoproteidlösung fällt um so mehr ins Gewicht, wenn in Betracht genommen wird, daß die Essigsäurefällung wohl nicht vollständig war und also diese Lösung weniger Nucleoproteid (und mitgefällte Stoffe) enthält als die filtrierte Flüssigkeit.

Die Vogelleber scheint an Stoffen, welche der Gerinnung entgegenwirken, reicher zu sein.

28 g Leber eines durch Verbluten getöteten Hahnes zerhackt und unter Zusatz von einigen Tropfen Chloroform mit 60 ccm Wasser verrührt, am folgenden Tag zentrifugiert und durch zusammengepreßten Papierbrei abgesaugt. 30 ccm des opalescierenden Filtrats mit Essigsäure versetzt und zentrifugiert. Der Niederschlag mit Natriumcarbonat bis zu neutraler Reaktion in 30 ccm Wasser aufgelöst.

1 ccm des filtrierten Extraktes + 2 Tr. 1% $CaCl_2$ + 5 ccm Fibrinogen, Gerinnung nach 24 Stunden unvollkommen.

1 ccm der Nucleoproteidlösung + 2 Tr. 1% $CaCl_2$ + 5 ccm Fibrinogen, Gerinnung nach 2 Stunden vollkommen.

1 ccm des filtrierten Extraktes + 2 ccm Ferment (Schmidt) + 2 ccm Fibrinogen, Gerinnung nach 40 Min.

1 ccm Wasser + 2 ccm Ferment (Schmidt) + 2 ccm Fibrinogen, Gerinnung nach 20 Min.

Das Vogelleberextrakt enthält also mit Kalk Fibrinferment liefernde Nucleoproteide, daneben aber gerinnungshemmende Stoffe.

Bei diesen und allen derartigen Versuchen stellte es sich immer wieder heraus, daß ohne Kalk weder die Gewebsextrakte noch die daraus bereiteten Nucleoproteide Gerinnung von Fibrinogen zu verursachen imstande sind.

Wenn also irgend ein Gewebsextrakt zwar Blutplasma, nicht aber eine gereinigte Fibrinogenlösung gerinnen macht, darf man daraus noch nicht die Existenz von Stoffen als Thrombokinase und Thrombogen folgern. Soweit man jetzt weiß, werden von allen Zellen des Tierkörpers an Wasser Nucleoproteide abgegeben, welche, mit Kalk zusammengebracht als Fibrinferment wirken können. Man hat keinen Grund, daran zu zweifeln, wenn bei der Vermischung so komplizierter Flüssigkeiten wie Gewebsextrakte und Blutplasma bisweilen Wirkungen zur Beobachtung kommen, welche den Befunden bei Vermischung von Gewebsextrakt mit gereinigter Fibrinogenlösung nicht völlig entsprechen.

Die Überlebungskurve bei Abtötung von Bakterien durch Hitze.

Von

C. Eijkman.

Mit 7 Figuren im Text.

(Aus dem hygienischen Institut der Universität Utrecht.)

Es ist eine bekannte Tatsache, daß sogar in ein und derselben Reinkultur die einzelnen Bakterien große individuelle Unterschiede mit Bezug auf Lebensfrische und Vermehrungs- sowie auch Widerstandsfähigkeit gegen schädliche Einflüsse darbieten können. Die Nichtbeachtung dieses Faktums hat bei Desinfektionsversuchen schon vielfach zu fehlerhaften Schlüssen Anlaß gegeben.

Es hat namentlich Schüder[1]) darauf hingewiesen, daß die Verwendung kleinerer Proben zur Kontrollierung des Desinfektionseffektes eine gelungene Abtötung vortäuschen kann, wo noch lebende Keime vorhanden sind, die aber erst durch Verarbeitung größerer Mengen des Untersuchungsmaterials ans Licht gezogen werden. Seine mit entsprechend verbesserter Methodik angestellten Untersuchungen, die sich speziell beziehen auf die Sterilisierung von Trinkwasser mittels Chemikalien, haben gezeigt, daß vereinzelte noch lebensfähige Keime übrig bleiben können lange nachdem die große Mehrheit schon abgestorben ist.

In Anbetracht dieser Tatsachen erschien es mir nicht nur von praktischem, sondern auch von theoretischem Interesse, die „Absterbeordnung" (wie es in der Mortalitätsstatistik heißt) der Bakterien bei künstlicher Abtötung numerisch und zeitlich zu verfolgen und graphisch darzustellen. Eine gewisse Gesetzmäßigkeit, die sich in der Form der „Überlebungskurve" aus-

[1]) Zeitschr. f. Hygiene u. Inf.-Krankh. 39.

sprechen müßte, war dabei von vornherein zu erwarten. Was namentlich die individuell verschiedene Zeitdauer der Abtötung anbetrifft, kam es mir am wahrscheinlichsten vor, daß eine Anhäufung der Sterbefälle um einen gewissen Zeitpunkt stattfinde, demgemäß, daß eine Frequenzkurve[1]) resultieren würde. die von diesem Punkte an nach beiden Seiten hin, von oben gesehen zunächst konvex, danach konkav verliefe, um schließlich asymptotisch sich der Abszisseachse zu nähern. Ungeachtet ob diese Frequenzkurve eine symmetrische wäre, wie die binomiale Kurve der Wahrscheinlichkeitsrechnung, die in der Biologie eine so hervorragende Rolle spielt, oder daß sich — wie ebenso bei der Gruppierung von biologischem Material nicht selten der Fall ist — eine mehr schiefe Kurve ergeben würde, immerhin müßte dann die korrespondierende Überlebungskurve sich nach dem Typus einer ʅ -Figur gestalten.

Es kam nun darauf an, die Versuchsbedingungen derart zu wählen, daß die zu erwartende Gesetzmäßigkeit in der Absterbeordnung so rein wie möglich zutage treten konnte. Namentlich mußte dafür Sorge getragen werden, daß die Bakterien alle in gleichem Maße von dem keimtötenden Mittel getroffen wurden, und daß die Intensität der Einwirkung während der Dauer der Beobachtung keine Änderungen erlitt. Diesen Forderungen zu genügen, gelingt m. E. besser bei Anwendung von Hitze als von chemischen Stoffen. Für unseren Zweck ist es nämlich als ein Nachteil der chemischen Desinfectantia zu betrachten, daß sie vielfach Verbindungen und Wechselwirkungen eingehen, nicht nur mit den Substanzen der Bakterienleiber, sondern auch mit den Bestandteilen des Mediums. Die aktive Konzentration des Desinfectans ändert sich dann im Laufe des Versuchs, während eine Temperatureinwirkung hingegen ganz bequem (bis auf weniger als 0,1° C genau) konstant erhalten werden kann. Dazu kommt, daß infolge der in keiner Weise ganz zu vermeidenden Znsammenklumpung ein Teil der Keime, und zwar die zu innen gelegenen, gegen die Einwirkung des

---

[1]) Die Frequenzkurve der Sterbefälle und die Überlebungskurve sind nur verschiedene Ausdrucksweisen für ein und dasselbe Geschehen. Die erstere gibt die im Laufe der Beobachtung pro Zeiteinheit absterbende Anzahl an, letztere die Zahl der zu jedem Zeitpunkte restierenden lebenden Individuen.

Agens geschützt werden, woraus dann fälschlich auf eine mehr als normale Widerstandsfähigkeit geschlossen wird. Zwar ist diese Fehlerquelle auch bei Hitzeinwirkung nicht gänzlich ausgeschlossen, sie wird hier aber viel weniger störend wirken, denn es ist nicht anzunehmen, daß die Temperatur im Inneren eines immerhin kleinen, in Flüssigkeit suspendierten Klümpchens nennenswert niedriger sei und bleibe als an der Peripherie.

Es sind alle unsere Versuche mit einem nicht sporenbildenden Mikroorganismus, dem Bac. coli communis angestellt. Eine 24stündige, bei 37° bebrütete Agarkultur wurde in einer relativ kleinen Menge einer sterilisierten Kochsalzlösung[1]) von 0,5% suspendiert und durch Papier filtriert, um wenigstens gröbere Klümpchen zu entfernen. Von der milchweißen Suspension wurde ungefähr 0,1 bis 0,2 ccm in eine Flasche mit 50 ccm einer auf die gewünschte Temperatur vorgewärmten 0,5%igen Kochsalzlösung eingetragen und mittels ebenso vorgewärmten Rührers schnell mit dieser vermischt. Die mit Glasstöpsel versehene Flasche von 100 ccm Inhalt war bis nahe an die Mündung eingetaucht in einem Ostwaldschen Wasserbad mit Toluolregulator und automatischem Rührer. In bestimmten Zeitintervallen wurden mittels steriler Pipetten abgemessene Proben aus der Flasche entnommen und Gelatinplatten davon angelegt, die im Brutofen bei 25° gestellt wurden. Die ersten, noch keimreichen Proben wurden, um eine zu dichte Besäung der Platte zu vermeiden, entsprechend verdünnt; im weiteren Verlauf kamen steigende Mengen (1—5 ccm) unverdünnt zur Anwendung.

Während die lebensfrischen Colibakterien nach 2- bis 3tägiger Bebrütung bei 25° ausnahmslos zu gut sichtbaren Kolonieen ausgewachsen sind, äußert sich die Schädigung durch Hitze zunächst in einer um ein bis mehrere Tage verspäteten Entwicklung. Daher geschah die definitive Feststellung der Kolonieenzahl erst, als keine Zunahme derselben mehr zu konstatieren war, d. h. nach 8 bis 16 Tagen. Wohl habe ich

---

[1]) Weil nach Fickers Untersuchungen eine reine Kochsalzlösung nicht als ein für Bakterien ganz indifferentes Medium zu betrachten ist, wurde sie mit Leitungswasser bereitet und zum Überflusse noch einige Tropfen Nährbouillon hinzugesetzt.

darüber gedacht, diese geschädigten Keime als nicht vollwertig zu vernachlässigen, oder nur für einen Bruchteil in Rechnung zu ziehen, habe aber bei näherer Überlegung diese Idee wieder fallen gelassen, namentlich auch weil eine scharfe Abgrenzung kaum zu machen ist und mithin eine gewisse Willkür bei der Zählung nicht zu vermeiden wäre.

Nebst der Plattenkultur, wobei faktisch nur eine ziemlich begrenzte Anzahl von Keimen zur Aussaat gelangen kann, wurde nach dem Beispiel von Schüder dann und wann noch ein anderes Verfahren in Anwendung gebracht, wobei größere Bakterienmengen verarbeitet wurden, um mit größerer Genauigkeit die obere Grenze der individuellen Widerstandsfähigkeit (gegen Hitze) anzunähern. Es wurden nämlich in dasselbe Wasserbad noch mehrere Flaschen gestellt und mit 50 bis 250 ccm genau der gleichen Bakteriensuspension versehen, wie jene, woraus die Proben für die Plattenkultur entnommen wurden. Von Zeit zu Zeit wurde eine Flasche herausgenommen, schnell in strömendem Wasser abgekühlt und der Inhalt im ganzen versetzt mit einem Zehntel seines Volums einer Nährlösung mit 5%igem Kochsalz, 5%igem Pepton und 10%iger Glykose. Die Flasche wurde sodann in den Brutofen bei 37° gestellt und nach 1 bis 2 Tagen auf etwa eingetretene Gärung und Entwicklung von Colibacillen untersucht. Wie bekannt, wird von den letzten Traubenzucker vergoren.

Was die anzuwendenden Abtötungstemperaturen anbetrifft, so kam es, um den Typus der Überlebungskurve herauszufinden, selbstverständig darauf an, nicht zu weit über die physiologische Grenze hinauszugehen. Nur ein relativ langsam verlaufender Prozeß gestattet eine genaue zeitliche Verfolgung der numerischen Verhältnisse. Bei rascher Abtötung durch hohe Temperaturen wird die Kurve notwendig in horizontaler Richtung zusammengedrungen erscheinen und voraussichtlich als eine steile, ziemlich gerade Linie verlaufen. Weil nun Bac. coli noch bei Hitzegraden bis zu 46°, hier allerdings nur unter sehr günstigen Ernährungsbedingungen, lebens- und sogar entwicklungsfähig bleibt, so habe ich Temperaturen von 47° an bis zu 52,2° C angewendet.

Die Ergebnisse der Versuche sind in den Figuren 1—7 graphisch dargestellt.

Es ist dazu folgendes zu bemerken.

Die neben jeder Kurve angegebene Zahl bezieht sich auf die zu Beginn des Versuchs pro Kubikmillimeter der Suspension

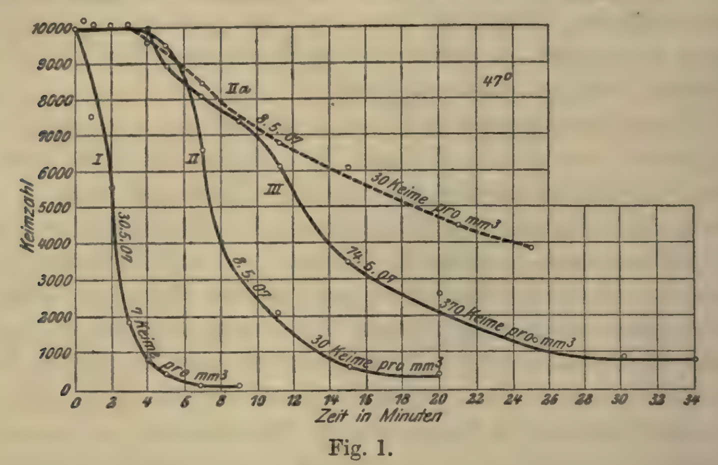


Fig. 1.

vorhandenen Keime und wurde durch einen Vorversuch ermittelt. Für die graphische Darstellung ist aber der Übersichtlichkeit wegen stets von 10000 Keimen ausgegangen, und sind die Ver-

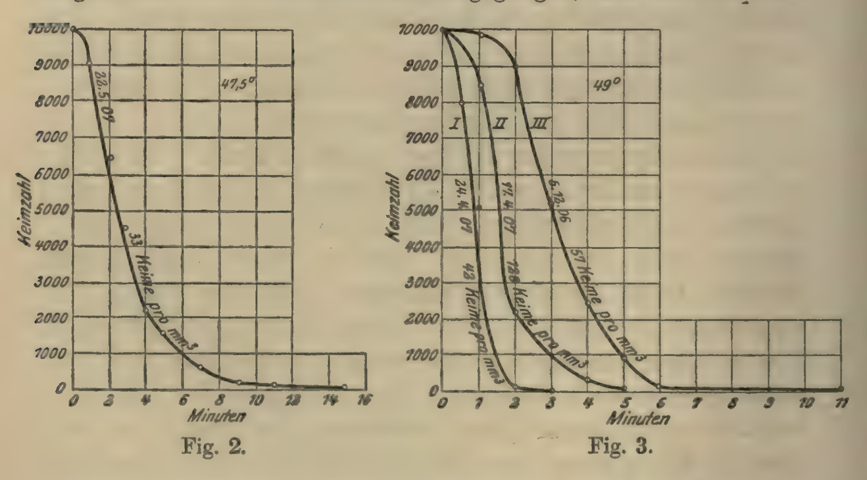


Fig. 2. Fig. 3.

suchsergebnisse entsprechend umgerechnet. Die in der Weise bestimmten Werte für die Zahl der überlebenden Keime sind als Kreiselchen eingetragen, und durch diese ist die Überlebungskurve hindurchgezogen. Dies aber nur soweit es ungezwungen geschehen konnte. Wo es nicht ging ohne Verunstaltung der

Kurve, sind die betreffenden Punkte beiseite liegen gelassen und ist ihre Abweichung als wahrscheinlich durch Versuchsfehler bedingt aufgefaßt. Wie aus den Figuren ersichtlich, sind diese Abweichungen meistenteils nur gering.

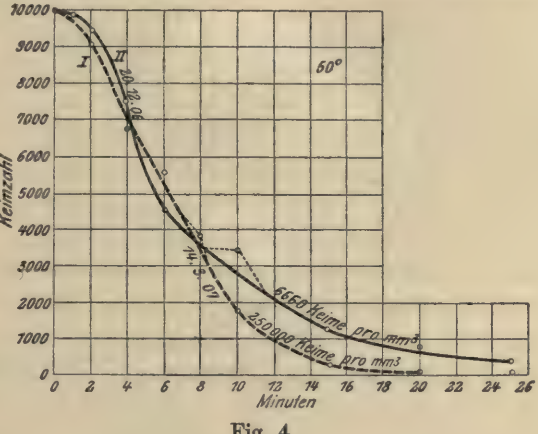


Fig. 4.

Es hatte schon Ficker[1]) in Erfahrung gebracht, daß es auch bei Benutzung ein und derselben Stammkultur und unter Einhaltung womöglich gleicher Versuchsbedingungen nicht gelingt, einigermaßen gleichmäßige Resultate zu erzielen. Ich kann solches nur bestätigen unter Verweisung auf Figuren 1, 3, 4 und 6, wo Überlebungskurven nebeneinander eingezeichnet sind, die sich beziehen auf an unterschiedenen Tagen, aber mit gleicher Abtötungstemperatur angestellte Versuche. Man ersieht daraus, wie stark unter augenscheinlich gleichartigen Bedingungen die Geschwindigkeit des Absterbungsprozesses wechseln kann. Die Ursachen dieser Schwankungen vermag ich ebensowenig wie Ficker in ganz zufriedenstellender Weise anzugeben. Nur so viel geht im Einklang mit Ficker aus unseren Untersuchungen hervor, daß im allgemeinen die Haltbarkeit der Keime cet. par. mit dem Keimreichtum der Suspension an-

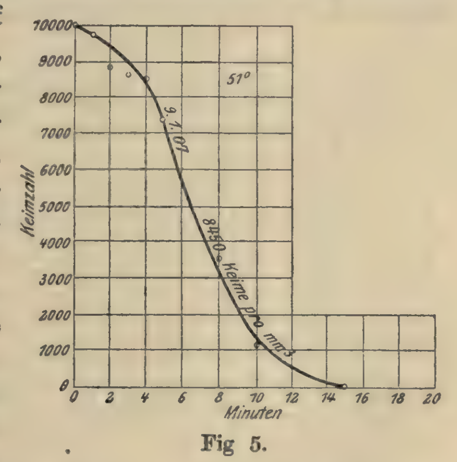


Fig 5.

[1]) Zeitschr. f. Hygiene und Inf.-Krankh. 92.

zuwachsen scheint. Diese Erscheinung dürfte auf eine schützende Wirkung der von den abgetöteten Keimen an das Medium abgegebenen Stoffe beruhen, wie aus der Kurve IIa von Figur 1

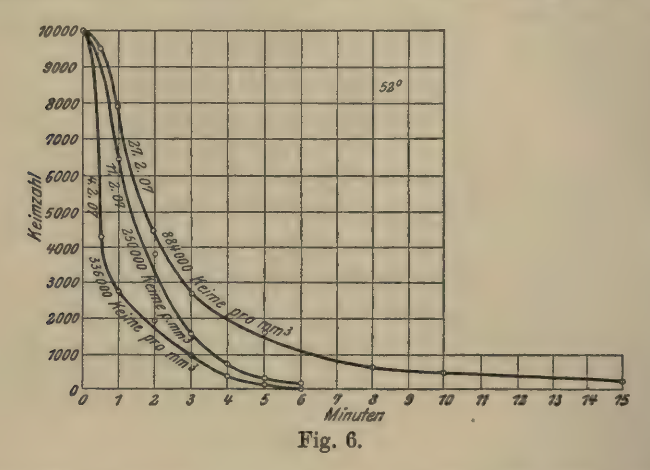


Fig. 6.

hervorgeht. Diese resultiert aus einem Parallelversuch von II, der sich von letzterem nur dadurch unterschied, daß die Bakteriensuspension angefertigt wurde mit einer Kochsalzlösung, worin zuvor schon eine große Menge Colikeime gebracht und durch stundenlange Erhitzung auf 52° abgetötet worden waren.

Fig. 7.

Zusatz von Nährbouillon hat eine ähnliche, die Tenazität der Bakterien erhöhende Wirkung.

An allen unseren Kurven ist nun, soweit das Absterben nicht mit zu großer Geschwindigkeit geschah, die oben schon postalierte ʅ-Gestalt deutlich zu erkennen. Wo der Verlauf ein relativ sehr langsamer ist, hat die Überlebungskurve im Anfangsteil sogar keine schiefgeneigte, sondern geradezu horizontale Richtung (vgl. Figur 1, 2, 2a und 3).

Ich möchte dies als den Ausdruck einer Inkubation be-

trachten. Nicht nur daß in dieser Periode keine Keime absterben, sondern sie sind auch noch nicht merklich geschädigt, wie der Umstand beweist, daß sie in der Gelatinplatte keine verzögerte Entwicklung aufweisen.

Je schneller die Abtötung, je kürzer auch diese Periode, und so braucht es kein Wunder zu nehmen, daß die sehr steil verlaufenden Kurven sie vermissen lassen. Damit will aber nicht gesagt sein, daß die Inkubation hier gänzlich fehlt. Nur hätte es Sekunden- anstatt Minutenwahrnehmungen bedurft, um sie ans Licht zu bringen.

Eine weitere Analyse der Versuchsergebnisse lehrt, daß alle Frequenzkurven der Sterbefälle schiefe Kurven sind, mit der Spitze nach links, d. h, nach der Nullseite hingerückt. Von einer Wiedergabe der Frequenzkurven ist hier abgesehen, das Gesagte geht aber schon daraus hervor, daß ohne Ausnahme, auch wenn die Inkubationsperiode mit eingerechnet wird, die erste Hälfte der Keime abgestorben ist in viel weniger als die Hälfte der Zeit, die für die Abtötung aller Keime erforderlich ist. Ja, wo die verschärfte Untersuchungsmethode nach Schüder angewendet wurde, ergab sich sogar, daß auch da, wo die Hälfte der Keime schon nach einzelnen Minuten eingegangen

Tabelle 1.

Temperatur	Keimzahl pro mm³	Keimzahl total	Hälfte der Keime abgestorben zwischen	Alle Keime abgestorben zwischen
47°	7	360000	2—3 Min.	1—1¼ St.
	29	1,4 Million.	7—8 „	33—45 Min.
	37	9,2 „	11—15 „	45—? „
47,5°	33	8,2 „	2½—3 „	1—1¼ St.
48°	82	20 „	½—2 „	1—1½ „
49°	41	2,1 „	±1 „	25—45 Min.
	59	2,9 „	½—1 „	20—30 „
50°	78000	3,9 Milliard.	3—5 „	4—5 St.
	93000	4,6 „	4—6 „	4—? „
	248000	12,4 „	6—7 „	5½—? „
52°	250000	12,5 „	2—3 „	1¼—1¾ „
	304000	15 „	2—3 „	1½—1¾ „
	336000	16,8 „	½—1 „	2—2¼ „
	500000	25 „	1—2 „	1¾—2¼ „
	882000	44 „	1½—2 „	2—2½ „
	78 Million.	392 „	½—1 „	1¾—2 „

war, eine Abtötung sämtlicher Keime öfters erst nach Stunden erzielt wurde (vgl. Tabelle 1 auf Seite 19).

Indes sind es nach den Ergebnissen der Plattenkultur hauptsächlich nicht vollwertige Nachzügler, durch welche die starke Verlängerung des Schwanzes der Überlebungskurve herbeigeführt wird. Dieser wird bedeutend abgekürzt, wenn die definitive Zählung der Kolonieen schon nach 2 bis 3tägiger Bebrütung stattfindet, anstatt daß sie so lange hinausgeschoben wird, bis keine Zunahme mehr zu beobachten ist (vgl. Tabelle 2 und Fig. 7).

Tabelle 2.

Dauer der Temperatur-Einwirkung (52°)	Kolonieenzahl pro ccm	
	nach 3 Tagen	nach 15 Tagen
0 Min.	336000000	336000000
1/2	144000000	144000000
1	115200000	128000000
2	51200000	65600000
3	4000000	33600000
5	800000	2720000
6	0	640000
10	0	3750
15	0	1000
35	0	1

Die Abtötungsdauer wird durch Vernachlässigung der Nachzügler in diesem Falle von 35 Min bis auf 5 Min. erniedrigt.

Die osmologische Auffassung der Hämo- und Bakteriolyse.

Von

P. v. Baumgarten.

(Aus dem Pathologischen Institut der Universität zu Tübingen.)

Daß die bekannte Erscheinung des „Lackfarbigwerdens" des Blutes, die Hämolyse, wie dieser Vorgang jetzt nach P. Ehrlich allgemein bezeichnet wird, in vielen Fällen auf einem osmotischen Vorgang beruht, indem durch Veränderungen des osmotischen Gleichgewichtszustandes, in welchem sich die roten Blutkörperchen in ihrem eigenen Serum befinden, das im Blutkörperchenstroma gelöst enthaltene Hämoglobin aus dem Stroma in die umgebende Blutflüssigkeit exosmiert, ist von den Physiologen ganz allgemein anerkannt. Es kommt hier vor allem das Lackfarbigwerden des Blutes in Wasser und in gegenüber dem Serum anisotonischen Salzlösungen in Betracht. Es lag daher nahe, auch das Lackfarbigwerden des Blutes in andersartigem Serum auf Störungen des osmotischen Gleichgewichts zwischen Zellsaft und umgebender Flüssigkeit zurückzuführen. Doch mußten alle früheren osmologischen Erklärungsversuche der Serumhämolyse ganz zurücktreten gegenüber einer anderen, bis vor kurzem herrschenden Theorie, wonach der genannte Vorgang auf der Einwirkung spezifischer, gegen die fremden roten Blutkörperchen gerichteter Blutgifte beruhe, welche eine direkte chemische Destruktion der betreffenden roten Blutzellen zur Folge habe. Da indessen die zuerst von Landois[1]), später von mir angestellten mikroskopischen Beobachtungen des Vorganges der Serumhämolyse sich nicht mit dieser rein chemischen Auffassung derselben in Einklang bringen ließen, in-

[1]) Die Transfussion des Blutes, Leipzig 1875.

dem diese Beobachtungen zeigten, daß eine eigentliche Destruktion der roten Blutkörperchen bei dieser Hämolyse nicht stattfindet, vielmehr nur eine einfache Trennung des Hämoglobins vom Stroma, wie bei der Hämolyse in anisotonischen Salzlösungen, und daß außerdem die Serumhämolyse unter ganz ähnlichen Form- und Volumveränderungen der roten Blutkörperchen erfolgt, wie die Salzhämolyse, so habe ich eine neue, allen Beobachtungstatsachen möglichst gerecht werdende, gewissermaßen chemisch-osmologische Auffassung der Serumhämolyse zu begründen gesucht, welche sich in einer monographischen Abhandlung[1]) ausführlich dargelegt findet, auf welche ich bezüglich aller Einzelheiten verweise.

Meine Auffassung ist, kurz gefaßt, folgende:

Durch die feste chemische Bindung des Hämolysins an das rote Blutkörperchen, welche Bindung nachweislich an das Stroma, nicht an das Hämoglobin stattfindet, wird die normale Beschaffenheit des Stromas verändert. Diese Veränderung besteht offenbar nicht in einer direkten chemischen Destruktion, sondern wohl nur in einer „molekularen" Alteration, der zufolge die normale Permeabilität (Semipermeabilität) des Stromas sich ändert, wodurch es zu Störungen des osmotischen Gleichgewichtes zwischen dem Blutkörpercheninhalt und der umgebenden Flüssigkeit kommt, welche Störungen sich teils durch anfängliche Schrumpfungen mit sekundärer Quellung, teils durch primäre Quellungen der Körperchen zu erkennen geben. Die in der Quellung zum Ausdruck kommende Steigerung des osmotischen Druckes in der Zelle ist es dann, welche das Hämoglobin aus dem Stromagehäuse heraustreibt.

Gegen diese Auffassung sind verschiedene Einwendungen erhoben worden, auf welche ich hier etwas näher eingehen möchte. Den schon etwas weiter zurückliegenden Einwand von Ehrlich und Sachs[2]), daß sich die mit ihren

---

[1]) Ergebnisse der osmologischen Forschung über Hämolyse. Mit einem Nachtrag: Mikroskopische Präparate zu derselben (Zickels osmologische Diagnostik und Therapie, Berlin 1905). Die Hämolyse im heterogenen resp. Immunserum: Arbeiten a. d. Pathol. Inst. zu Tübingen 5, H. 2, 1905.

[2]) Vgl. H. Sachs, Die Hämolysine usw. Lubarsch-Ostertags Ergebnisse 7, 1902, Sep.-A., S. 65.

hämolytischen Amboceptoren behafteten Blutkörperchen auch in ihrem eigenen Serum (Komplement), „also dem idealsten isotonischen Medium", lösen können, habe ich bereits in meiner oben zitierten Abhandlung[1]) folgendermaßen erledigt:

„Der Begriff der Isotonie ist eben ein relativer; isotonisch ist das Serum für die eigenen roten Körperchen nur so lange, als sich der osmotische Druck in letzteren nicht ändert; wenn dies aber aus bestimmten Gründen — hier durch Einwirkung des Hämolysins auf die roten Blutkörperchen — geschieht, dann ist keine Isotonie mehr vorhanden, dann sind die Körperchen in bezug auf die Flüssigkeit und die Flüssigkeit in bezug auf die Körperchen anisotonisch geworden."

In neueren und neuesten maßgebenden Schriften[2]) nun wird meine obige Auffassung durch den Hinweis auf die Arbeiten von Friedberger, Rößle und Leuchs als widerlegt betrachtet, in welchen gezeigt worden ist, daß die roten Blutkörperchen (bzw. die Bakterien) durch Verankerung des Amboceptors keine Schädigung, keine Schwächung ihrer Widerstandskraft gegen osmotische oder sonstige Schädlichkeiten erfahren. Die Annahme, daß die roten Blutkörperchen durch eine Verbindung mit dem Amboceptor allein in ihrer Resistenz gegen osmotische Schädigungen herabgesetzt würden, ist aber von mir nur ganz im Anfang meiner hämolytischen Studien vertreten worden; die Notwendigkeit des „Komplements" für die spezifische Hämolysinwirkung wurde bereits im Jahre 1902 von mir anerkannt.[3]) Wie fern meiner jetzigen Auffassung, wie ich sie oben formuliert habe, der Gedanke liegt, den Amboceptor (Immunkörper) als das zellschädigende Agens zu erachten, dafür erlaube ich mir u. a. folgenden Passus[4]) aus meiner oben zitierten Abhandlung zu reproduzieren: „Daß die roten Blutkörperchen zunächst

---

[1]) Arbeiten a. d. Pathol. Inst. z. Tübingen 5, 174, 1905.

[2]) H. Sachs, Die Hämolysine und die cytotoxischen Sera (Lubarsch-Ostertags Ergebnisse, 7, 1907, 567 bis 568). — G. Sobernheim; Die Lehre von der Immunität usw. in: Krehl-Marchands Handb. d. allg. Pathol. 1, 491, 1908.

[3]) Weitere Untersuchungen über Hämolyse im heterogenen Serum (Berl. klin. Wochenschr. 1902, Nr. 43).

[4]) Arbeiten a. d. Pathol. Inst. zu Tübingen 5, 171, 1905.

durch ihre Verbindung mit dem hämolytischen Immunkörper nicht getötet werden, dürfte sicher sein, denn sie verhalten sich in inaktiviertem Serum, welches den Immunkörper in der Vollkraft seiner Wirkungsfähigkeit enthält, genau so wie lebende rote Blutkörper: sie bewahren ihre Form, halten ihren Farbstoff dauernd fest und werden, wie Matthes gezeigt hat, durch verdauende Fermente ebensowenig wie lebende rote Blutkörperchen geschädigt.“ Also nicht dem Amboceptor an sich, sondern dem spezifischen Hämolysin, i. e. dem durch den Amboceptor auf die Zelle einwirkenden Komplement, schreibe ich die die Hämolyse herbeiführende Permeabilitätsveränderung der roten Blutkörperchen zu, wie dies ja auch in der obigen, meiner zitierten Schrift entlehnten Formulierung meiner Anschauung ausgesprochen ist.

Zu meiner Freude hat aber meine Auffassung nicht nur Widerspruch, sondern auch gewichtige Unterstützung gefunden. Völlig unabhängig von mir (wie ich von ihm) hat zunächst Nolf[1]) eine osmologische Theorie der Serumhämolyse begründet, welche der meinigen sehr nahe kommt. Nach Nolf wirken die Serumhämolysine nach Art des Ammoniumchlorids, welches, in die roten Blutkörperchen leicht eindringend, die Affinität des Stromas zum Wasser steigert, so daß eine exzessive Imbibition der Blutkörperchenmembran mit Wasser erfolgt, in welchem Zustande dieselbe für das Hämoglobin durchlässig wird. Diese Theorie Nolfs, welche sich ausschließlich auf Reagensglasversuche, nicht auch auf mikroskopische Beobachtungen des hämolytischen Vorganges im hängenden Tropfen stützt, vermag indessen die so häufigen anfänglichen Schrumpfungen der ins hämolytische Serum übertragenen roten Blutkörperchen nicht genügend zu erklären; ich möchte daher einstweilen meiner obigen Auffassung, welche auch dieses Phänomen zu deuten gestattet, den Vorzug geben. In der Hauptsache aber vereinigen sich Nolfs und meine Auffassung, nämlich in der Anschauung, daß der Austritt des Hämoglobins nach den Gesetzen der Osmose erfolgt, auf Grund von Störungen, welche durch das Eingreifen des Hämolysins in dem osmotischen

[1]) Contribution à l'étude des sérums antihématiques (Annales de l'Inst. Pasteur 19, 297, 1900) und: Le mécanisme de la globulyse (Ibidem, S. 656).

Gleichgewicht zwischen dem Blutkörpercheninhalt und der umgebenden Flüssigkeit herbeigeführt werden.

Schon frühzeitig schloß sich Gruber[1]) meiner osmologischen Anschauung an, welchem Forscher ich gerne das Verdienst zuerkenne, durch seine Entdeckung der spezifischen Bakterienagglutination und durch seine grundlegenden Arbeiten über den Mechanismus derselben einen wesentlichen Einfluß auf die Ausbildung meiner Theorie der Serumhämolyse ausgeübt zu haben. Bald hierauf traten auch Zikel[2]), Löwit[3]) und Albrecht[4]) dieser Anschauung bei, Zikel mit der Annahme „spezifischer Strukturveränderungen (Permeabilitätsänderungen) der Zellmembranen", Löwit mit der Erklärung, daß er „nach eigenen diesbezüglichen Untersuchungen die Hämolyse für einen wesentlich durch osmotische Verhältnisse bedingten Prozeß halte", Albrecht unter Hinweis auf seine bekannten zellmorphologischen Studien, insbesondere über die „Struktur der roten Blutkörperchen". Eine prinzipielle Übereinstimmung mit meiner Anschauung finde ich auch in den Untersuchungen Koeppes[5]), eines hervorragenden Kenners der verschiedenen Hämolyseformen, welcher die Serumhämolyse als eine Hämolyse sui generis erachtet, „deren Ursache wahrscheinlich darin zu suchen ist, daß bei derselben der eiweißartige Bestandteil der ‚Wand' der roten Blutkörperchen angegriffen wird". Wenn hier, wie ich annehme, unter dem Ausdruck „angegriffen wird" nicht eine Zerstörung, sondern nur eine Schädigung, eine molekulare Alteration zu verstehen ist, so begegnen sich unsere beiderseitigen Anschauungen, wenn auch Koeppe den osmotischen Charakter des Hämoglobinaustrittes bei der Serumhämolyse nicht hervorhebt. Unter der gleichen Voraussetzung halte ich meine Auffassung auch mit dem Ergebnis der exakten Ver-

[1]) Zur Theorie der Antikörper (Münch. med. Wochenschr. **1901**, Sep.-A., S. 31).

[2]) Lehrb. d. klin. Osmologie usw. Berlin 1902.

[3]) Bemerkung in der Diskussion zu meinem bei der V. Tagung der Deutschen Pathol. Ges. in Karlsbad, Sept. 1902, gehaltenen Vortrag: „Weitere Untersuchungen über Hämolyse im heterogenen Serum".

[4]) Bemerkung in derselben Diskussion und Verh. d. Deutschen Pathol. Ges. in Breslau, Sept. 1904, S. 21.

[5]) Über Hämolyse (Verh. d. XXI. Kongr. für innere Med. in Leipzig 1904, S. 344).

suche Neubergs[1]) für vereinbar, wonach die Serumhämolysine die Lipoidhülle der roten Blutkörperchen (durch Lipolyse) verändern. Als eine Zustimmung darf ich es wohl auch ansehen, daß Morgenroth, der verdienstvolle Mitarbeiter Ehrlichs bei dessen berühmten Experimentaluntersuchungen über Serumhämolyse, in einer jüngst erschienenen Arbeit,[2]) unter Bezugnahme auf meine Untersuchungen über die Wirkungsweise der Serumhämolysine, bei Erörterung des Wirkungsmodus der Hämolysine und Cytotoxine überhaupt, nicht nur die frühere Theorie der fermentativen Auflösung aufgibt (die jetzt ziemlich allgemein verlassen sein dürfte[3]), sondern auch hinzufügt: „Man drückt den gegenwärtigen Stand dieser Frage wohl am besten aus, wenn man ganz allgemein von einer Schädigung der Zellen spricht, ohne zukünftigen Forschungen über das Wesen derselben vorzugreifen.“ Hiermit lehnt Morgenroth offenbar auch die spätere Annahme Ehrlichs einer protoplasmatötenden Wirksamkeit der Hämolysine zugunsten meiner Auffassung ab, ohne allerdings, gleich Koeppe und Neuberg, auf die osmologische Seite des hämolytischen Prozesses einzugehn.

Von größtem Werte ist es mir daher gewesen, daß unser hochverehrter Herr Jubilar, der gewiß von allen Seiten als einer der kompetentesten Forscher und Beurteiler in osmologischen Fragen anerkannt ist, zu einer mit der meinigen im Prinzip völlig übereinstimmenden Auffassung über das Wesen der Serumhämolyse gelangt ist. In Band **3**, S. 360 seines großen osmologischen Werkes[4]) schreibt Hamburger folgendes: „Ich glaube, daß unter dem Einfluß des Alexins das Stromaprotoplasma derart verändert wird, daß die Permeabilität modifiziert wird. Das anfängliche, gewöhnlich vorkommende, aber auch

---

[1]) C. Neuberg u. E. Rosenberg, Lipolyse, Agglutination und Hämolyse (Berliner klin. Wochenschrift **1907**, No. 2; C. Neuberg u. C. Reicher, Diese Zeitschr. **4**, 281, 1907; Münchener med. Wochenschr. **1907**, No. 35).

[2]) Morgenroth u. L. Rabinowitsch, Die Immunitätsreaktionen tuberkulösen Gewebes und deren Zusammenhang mit der Theorie der Tuberkulinwirkung (Deutsche med. Wochenschr. **1907**, Nr. 18, 708).

[3]) Cf. hierüber H. Sachs, Die Hämolysine und die cytotoxischen Sera (Lubarsch-Ostertags Ergebnisse, **9**, 1907, 597 bis 598).

[4]) Osmotischer Druck und Ionenlehre in den medizinischen Wissenschaften, 3 Bde., Wiesbaden 1902—1904.

nicht selten fehlende Schrumpfungsbild weist wahrscheinlich auf eine Strukturveränderung des Stromas oder dessen äußerer Begrenzung hin, wozu allerdings, wie aus der Agglutination ersichtlich ist, große Neigung besteht. Die nachträgliche Quellung rührt daher, daß die in das Blutkörperchen hineindiffundierten Substanzen einen größeren osmotischen Druck repräsentieren als die ausgewanderten. So wäre es z. B. denkbar, daß Chlornatrium in die Blutkörperchen hineindiffundierte und eine äquivalente Menge Na_2CO_3 dieselben verließe. In der Tat enthält das Serum viel mehr Cl' als der Blutkörpercheninhalt. Selbst wenn der Austausch in äquimolekulären Verhältnissen stattfindet, gehen 2 Cl' hinein und 1 CO_3'' hinaus, infolgedessen steigt der osmotische Druck innerhalb des Blutkörperchens. Diese Vorstellung wäre experimentell durch quantitative Analysen zu prüfen"[1]). — Und auf S. 362 des genannten Werkes resümiert Hamburger meine derzeitige Auffassung folgendermaßen: „Die Anisotonie ist also nach ihm nicht die primäre Ursache der Hämolyse im heterogenen Serum, wie er anfänglich meinte. Das entscheidende ursächliche Moment liegt in der Einwirkung der spezifischen Stoffe auf die roten Blutzellen. Diese Stoffe alterieren nach ihm das Stroma und setzen dessen Resistenz herab, ändern die Permeabilität. Verstehe ich den Verfasser recht, so denkt er sich den Vorgang so, wie ich ihn oben (S. 360) etwas schärfer präzisiert habe".

Selbstverständlich akzeptiere ich sehr gerne diese präzisere Fassung des kompetenten Forschers, namentlich in ihrem zweiten, die Quellung betreffenden Teile; das Schrumpfungsbild möchte ich allerdings doch bis auf weiteres nur als den Ausdruck eines Wasserverlustes ansehen, nicht als den einer Strukturveränderung

---

[1]) In einer Anmerkung fügt hier Hamburger hinzu: „Ich muß indessen hervorheben, daß die Hämolyse nicht immer mit Volumvermehrung einhergeht." Die betreffenden Ausnahmen beziehen sich aber, wie aus Hamburgers Darlegungen hervorgeht, nicht auf Serumhämolyse, sondern auf Äther- und Saponinhämolyse, welche beiden letzteren Hämolyseformen von der ersteren, nach Koeppes und meinen Untersuchungen, scharf zu trennen sind: Die sog. Hämolyse durch Äther und Saponinsubstanzen ist nämlich keine eigentliche Hämolyse sondern eine Erythrocytolyse (Baumgarten), d. h. ein Vorgang, bei welchem nicht bloß eine Trennung des Farbstoffes vom Stroma, sondern auch eine totale Zerstörung (Auflösung) des letzteren stattfindet.

des Stromas, weil die Erscheinung auch in den allerdings seltenen Fällen eintritt, in welchen die Hämolyse nicht von Agglutination begleitet ist, hier also eine eigentliche Strukturveränderung des Stromas als Ursache der Schrumpfung nicht wohl anzunehmen ist. Es dürfte freilich schwer sein, den Wasserverlust, den übrigens auch schon Landois[1]) als Ursache der anfänglichen Schrumpfung der ins heterogene Serum verbrachten roten Blutköperchen angenommen hat, osmologisch zu erklären; vielleicht beruht er darauf, daß anfangs gerade solche Stoffe (Salze) aus den für sie durchlässig gewordenen Blutkörperchen austreten, welche einen größeren osmotischen Druck repräsentieren, als die dafür eintretenden. Diese, z. B. auf Grund der bekannten Ermittlungen Hamburgers über den Einfluß geringer Alkalimengen auf den Stoffaustausch und die Gestalt der roten Blutkörperchen denkbare Möglichkeit verdient von der zukünftigen exakten Forschung berücksichtigt zu werden.

Die genauere Erkenntnis des Wesens der Serumhämolyse gibt uns nun auch den Schlüssel für das nähere Verständnis der dieser völlig analogen Serumbakteriolyse. Es besteht in der Tat nach meinen eingehenden vergleichenden mikroskopischen Untersuchungen beider Vorgänge eine vollständige Übereinstimmung derselben in den wesentlichen Punkten: Auch bei der sog. Bakteriolyse kommt es nicht zu einer eigentlichen „Auflösung" der Bakterienzelle, sondern nur zu einer analogen Trennung des flüssigen Zellinhaltes von dem festen Zellgehäuse, wie bei der Hämolyse; nach dem Austritt der flüssigen Bestandteile bleibt die Zellenmembran und der (in Wasser) unlösliche Teil des Protoplasten zunächst ungelöst zurück. Das schließliche spurlose Verschwinden der bakteriolysierten Bakterienleiber im lebenden Tierkörper ist ein sekundärer Vorgang, der mit der Bakteriolyse als solcher gar nichts zu tun hat. Bekanntlich besitzt der lebende Tierkörper die Fähigkeit, in ihm befindliche abgestorbene Zellen und Zellenbestandteile, mögen sie nun Leichen oder Leichenbestandteile von Fremdzellen oder von eigenen Körperzellen sein, aufzulösen (zu „resorbieren"), und da die Bakterien nach vollständiger Bakteriolyse,

---

[1]) Die Transfusion des Blutes, Leipzig 1875, S. 159.

ebenso wie die roten Blutkörperchen nach vollständiger Hämolyse, sicher abgestorben sind, so unterliegen sie im lebenden Tierkörper dieser seiner nicht-spezifischen nekrolytischen Tätigkeit. Hierauf beruht es, daß in vitro niemals eine wirkliche „Auflösung“ der bakteriolysierten Bakterien beobachtet wird, (ebensowenig wie eine solche der hämolysierten roten Blutkörperchen), was mit Unrecht als eine Unvollständigkeit der Bakteriolyse (Bactericidie) in vitro gegenüber derjenigen in vivo (wegen unvollständiger Wirkung des labilen Komplements) aufgefaßt worden ist. Es läßt sich leicht nachweisen, daß durch ein stark bactericides Serum auch in vitro sämtliche der in dasselbe (nicht zu zahlreich) eingesäten Keime abgetötet werden, und daß trotzdem die Bakterien nicht wirklich aufgelöst, sondern nur bakteriolysiert, d. h. daß die den entfärbten Blutkörperchenstromata, den sog. „Blutkörperchenschatten“ (Ponfick), entsprechenden Bakterienschatten (Gruber) vollzählig erhalten geblieben sind. So ist also auch in zellmorphologischer Hinsicht die Übereinstimmung zwischen Hämolyse und Bakteriolyse eine so vollständige, als es die zwischen Bakterienzelle und roter Blutzelle bestehende Verschiedenheit der Zellstruktur überhaupt zuläßt.

Eine, wenn auch nur kurze Erörterung der Hämo- und Bakteriolysine kann heutzutage die von A. E. Wright entdeckten oder wenigstens als besondere Antikörper des Serums diskussionsfähig gemachten „Opsonine“ nicht mit Stillschweigen übergehen. Ich muß nun bekennen, daß ich es, nach allem, was bisher über diese Opsonine bekannt ist[1]) und was ich selbst darüber habe ermitteln können, nicht für möglich halte, dieselben von den bekannten, als Lysine und Agglutinine bezeichneten spezifischen Antikörpern des Serums scharf zu trennen. So kann zunächst das Ergebnis des Grundversuchs der Opsoninlehre, wonach in „opsonisch“ wirksames Normalserum zugleich mit Leukocyten verbrachte Bakterien von den ersteren reichlicher aufgenommen werden als in sog. indifferenten Salzlösungen

---

[1]) Vgl. hierüber die sehr eingehende und sorgfältige kritische Besprechung der Opsonin-Literatur in der Studie von E. Sauerbeck: „Neue Tatsachen und Theorien in der Immunitätsforschung“ (Lubarsch-Ostertags Ergebnisse 9, 1907, 699 ff.) auch als „Sonderabdruck“, Wiesbaden 1907, erschienen.

oder im inaktivierten Serum, ungezwungen so gedeutet werden, daß die Bakterien von den bekannten bacteriolytischen Substanzen des Serums in der Weise beeinflußt werden, daß sie chemotaktische Stoffe (Bakterienproteïne) aus ihren Leibern austreten lassen, welche die Leukocyten anlocken, die nun die derartig veränderten Bakterien reichlicher „fressen", als nicht in dieser Weise veränderte. Wenn das Serum (Normalserum) durch Erhitzen auf 60° seinen „opsonischen" Effekt verliert, so läßt sich dies durch Zerstörung des thermolabilen Komplements erklären, und bleibt nach vollzogener Bindung des „Opsonins" an die Bakterien „trotz 5stündiger Erhitzung auf 60°" der „opsonische" Effekt erhalten, so stimmt auch diese Beobachtung mit obiger Annahme überein, da, wenn das Bakteriolysin einmal in das Bacterium verankert und dieses dadurch in einen opsonischen, d. h. zur positiven Chemotaxis geeigneten Zustand versetzt worden ist, eine nachträgliche Zerstörung des Komplements nichts mehr verschlägt. (Den Bakterienproteïnen, welche nach obiger Auffassung die unmittelbare Ursache der Phagocytosebeförderung sind, schadet ja eine länger dauernde Erhitzung auf 60° nichts, da sie äußerst thermostabile Substanzen sind). Schließlich ist die Tatsache,daß die „Opsonine" des Immunserums die Thermolabilität der „Opsonine" des Normalserums in der Regel nicht teilen, sondern ziemlich thermostabil sind, ebenfalls nicht geeignet, die Unabhängigkeit der „Opsonine" von den Serumlysinen zu beweisen, da die Thermolabilität der Komplemente in ziemlich weiten Grenzen schwankt, thermostabile Komplemente keineswegs ganz selten sind, und vielfältige Erfahrung gelehrt hat, daß die Komplemente, welche Immun-Amboceptoren aktivieren, eine größere Hitzeresistenz aufweisen, als die Komplemente von Normal-Amboceptoren. Daß der Leib vieler Bakterien positiv chemotaktische Substanzen enthält, die beim Absterben oder bei Ernährungsstörungen aus diesen ausgeschieden werden, ist eine zuerst von H. Buchner[1]) festgestellte und später vielfach bestätige Tat-

---

[1]) Über pyogene Stoffe in der Bakterienzelle (Berl. klin. Wochenschr. 1890, Nr. 30. — Die chemische Reizbarkeit der Leukocyten und deren Beziehung zu Entzündung und Eiterung (Berl. klin. Wochenschr. 1890, Nr. 47). — Die Bakterienproteïne und deren Beziehung zur Entzündung und Eiterung (Centralbl. f. Chir. 1890, Nr. 50).

sache. Da nun die Bakteriolyse ebenfalls zu einer Ausscheidung gelöster Eiweißsubstanzen aus der Bakterienzelle führt, so dürfte nach alledem gegen unsere Annahme, daß die sog. Opsoninwirkung nichts anderes sei, als eine Nebenwirkung der bakteriolytischen Substanzen, kaum viel einzuwenden sein. Eine ähnliche Anschauung hat übrigens schon Dean[1]) auf Grund eingehender Untersuchungen ausgesprochen, indem er das „Opsonin" in der Hauptsache mit dem lytischen Amboceptor idendifiziert; diese Annahme dürfte indessen kaum genügen, da der Amboceptor ja nur das chemisch ziemlich indifferente Bindeglied zwischen der Zelle und dem wirksamen Komplement abgibt; auch ist das völlige Verschwinden der opsonischen Wirkung aus dem für kurze Zeit auf 60° erhitzten opsonischen Normalserum nicht wohl mit Deans Annahme zu vereinbaren, was diesen sorgfältigen Forscher ja auch veranlaßt hat, eine gewisse Beteiligung des Komplements an der opsonischen Wirkung des Amboceptors zu statuieren. Nicht dem Amboceptor allein, sondern dem mit ihm vereinigten Komplement, dem spezifischen Serumlysin, wird daher die opsonische Wirkung zugeschrieben werden müssen. Auch finde ich weder bei Dean, noch bei einem anderen Autor über Opsonine, Wright nicht ausgenommen, eine Erklärung der Opsoninwirkung, d. h. eine Auskunft darüber, in welcher Weise die sog. Opsonine die Phagocytosebeförderung zuwege bringen sollen. Durch meine obige Hypothese erklärt sich, wie ich glaube, die Sache ziemlich einfach[2]).

Ist nun die hier geäußerte Ansicht über die „Opsonine" richtig, so werden die Schlußfolgerungen, welche Wright und seine Anhänger aus ihren Beobachtungen gezogen haben, stark erschüttert. Der Zweck und die Bedeutung der

---

[1]) An experimental enquiry into the nature of the substance in serum which influences phagozytosis, Proc. Roy. Soc. **76**, 506 bis 524.

[2]) Wie ich nachträglich ersehen, sind auch andere Forscher zu einer mit der obigen wesentlich übereinstimmenden Auffassung über die Natur und Wirkungsweise der „Opsonine", welche Auffassung ich bereits in meinem Jahresbericht für pathogene Mikroorganismen **1905**, S. 144 und S. 748 entwickelt habe, gelangt, so namentlich auch Neufeld (Über die Ursachen der Phagocytose, Arbeiten a. d. Kaiserl. Ges.-Amt **27**, 414, 1907).

Opsonine liegt nach Wright darin, daß mit ihrer Hilfe diejenigen infektiösen Bakterien, welche nicht von bactericiden Stoffen des Serums vernichtet werden, den Phagocyten überliefert und durch diese zerstört werden. Namentlich für die pyogenen Kokken und für die Tuberkelbacillen sieht Wright die Opsonine als entscheidende Faktoren in dem siegreichen Kampfe des Organismus gegen diese Krankheitserreger an. Fallen aber die Opsonine mit den spezifisch-bactericiden Stoffen des Serums zusammen, so bedarf es natürlich einer Tötung der opsonierten Bakterien durch die Phagocyten nicht; diesen würden dann auch bei dieser Gelegenheit, wie sonst immer, nur die Aufgabe zufallen, abgestorbenes oder absterbendes zelliges Material, welches sie in sich aufgenommen haben, zu „resorbieren", d. h. unter bestimmten Umwandlungsstufen schließlich aufzulösen, wie sie dies z. B. auch mit von ihnen aufgenommenen absterbenden oder abgestorbenen roten Blutkörperchen, eigenen oder fremden, tun, die, beiläufig bemerkt, nach Barratt[1]) sowie Neufeld und Töpfer[2]) durch (fremdes) Serum ebenfalls „opsonisch" gemacht werden, was den Eindruck der Zusammengehörigkeit der Erscheinung der „Opsonie" mit den agglutinolysierenden Serumwirkungen nur noch verstärken muß. Es ist nun allerdings zuzugestehen, daß die von Wright für seine Opsoninlehre hauptsächlich in Betracht gezogenen pyogenen Staphylokokken und die Tuberkelbacillen zu denjenigen Bakterien gehören, welche in vitro weder durch Normal- noch durch Immunserum deutlich „bakteriolysiert" und dementsprechend auch durch das Serum in vitro nicht abgetötet werden; aber nicht zugestanden kann Wright werden, daß die hier, d. h. in vitro, den „Opsoninen" (den Bakteriolysinen nach unserer Auffassung) nicht gelungene Tötung der Bakterien nun durch die sich ihrer bemächtigenden Phagocyten vollbracht werde. Ich finde keinen Beweis hierfür in den Arbeiten Wrights und seiner Anhänger, auch nicht in den diesen Arbeiten nahe verwandten

---

[1]) Über Phagocytose von roten Blutkörperchen (Verh. d. Deutschen Path. Ges., Meran **1905**, 9. Tagung, Jena 1906, S. 325). — Über erythrocytale Opsonine (Ibidem, 10. Tagung in Stuttgart **1906**, 170).

[2]) Über hämolytische und hämotrope Sera (Centralbl. f. Bakt. u. Paras. **38**, 1905, Orig.; S. 456).

Untersuchungen von Neufeld und seinen Mitarbeitern[1]), und die Ergebnisse von in meinem Laboratorium angestellten Nachprüfungen, in welchen die Wrightsche Versuchsanordnung genau befolgt wurde, sprechen gegen diese Annahme: Trotz reichlichster Aufnahme der geprüften Bakterien (Staphylokokken, Tuberkelbacillen) in die Phagocyten konnte keine Abnahme der ursprünglichen Keimzahl, häufig dagegen (bei Staphylokokken) sogar eine Zunahme derselben konstatiert werden! Auch diese Beobachtungen haben mir also nicht die Überzeugung zu vermitteln vermocht, daß die Leukocyten imstande wären, lebenskräftige Bakterien zu vernichten, und wie schwach es um die der älteren Phagocytentheorie entgegengebrachte Annahme der neuzeitigen Immunitätsforschung bestellt ist, daß die wirksame Komponente des bakteriolytischen Antikörpers des Serums (das Komplement) in den Leukocyten enthalten sei, das zeigen die neuesten, eingehenden Untersuchungen von Lambotte und Stiennon[2]), von Pettersson[3]) sowie von Neufeld[4]), welche Forscher auf Grund

---

[1]) Über die Antikörper des Streptokokken- und Pneumokokken-Immunserums (Deutsche med. Wochenschr. **1904**, Nr. 40); Weitere Mitteilungen über die Immunität gegen Streptokokken und Pneumokokken (Zeitschr. f. Hygiene u. Inf.-Krankh. **51**, 283, 1905); Untersuchungen über baktericide Immunität etc. (Arbeiten a. d. Kaiserl. Ges.-Amt **25**, 164, 1907); Über cytotoxische und cytotrope Serumwirkungen (Ebenda, **27**, 310, 1907); Über die Ursachen der Phagocytose (Ebenda, 414); Beitrag zur Kenntnis der Phagocytose etc. (Ebenda, **28**, 125, 1908). — In diesen Arbeiten ist Neufeld, im Anschluß an eine frühere Arbeit von Denys und Leclef, zu der Annahme besonderer „bakteriotroper“ Stoffe gelangt, welche bei der Immunisierung im Serum auftreten und von den Bakteriolysinen und damit auch von den Opsoninen verschieden sein sollen. Nach den obigen Darlegungen ist indessen an der Identität der „bakteriotropen“ Substanzen mit den Immun-Opsoninen einerseits und damit an der Zusammengehörigkeit der „Bakteriotropine“ und Bakteriolysine andererseits wohl kaum zu zweifeln.

[2]) Alexine et leucocyte (Centralbl. f. Bakt. u. Paras. **11**, Heft 2 bis 4, 1905/06).

[3]) Über die baktericiden Leukocytenstoffe und ihre Beziehung zur Immunität (Ibidem **39**, Heft 4 u. 5, 1905).

Über die Bedeutung der Leukocyten bei der intraperitonealen Infektion des Meerschweinchens mit Typhusbacillen (Ibid. **11**, Heft 4, 1906).

[4]) Beitrag zur Kenntnis der Phagocytose und zur Herkunft des Komplements (Arbeiten a. d. Kaiserl. Ges.-Amt **28**, 125, **1908**).

dieser ihrer Untersuchungen jede Beziehung der Leukocytenstoffe zu den Komplementen (Alexinen) und jede „bakteriolytische" Tätigkeit der Leukocyten in Abrede stellen. Lambotte und Stiennon suchen zwar eine Fähigkeit der Leukocyten, gewisse Bakterien im lebenden Zustande zu „verdauen", für die Phagocytentheorie zu retten; aber die hierfür beigebrachten Beobachtungen reichen nicht entfernt aus, diese Fähigkeit zu beweisen. Woher sollen denn auch die Leukocyten die lebendige Bakterien verdauende Kraft nehmen, da wir doch aus den Untersuchungen von Matthes[1]), Fermi, E. Neumann[2]) und anderen Forschern wissen, daß selbst die stärksten Verdauungsfermente, die wir kennen, Trypsin und Pepsin, ungeschädigte lebende Zellen nicht anzugreifen vermögen, selbst nicht so empfindliche, wie die roten Blutkörperchen, und aus den Untersuchungen Sigwarts[3]), daß dies Gesetz auch für lebende Bakterien gilt? — Ebensowenig haltbar erscheint mir die, von Pettersson der Phagocytenlehre gemachte Konzession, daß in einigen Fällen die bactericide Immunität nicht durch die lytischen Stoffe im Serum, sondern durch „bactericide Leukocytenstoffe" (die von den Alexinen [Komplementen] verschieden sind) bewirkt werde. Daß diese künstlich dargestellten Stoffe im lebenden Körper, und zwar speziell bei der Phagocytose, zur Wirksamkeit gelangen, ist nicht erwiesen. Insofern ist ja die Wrightsche Opsoninlehre und die ihr verwandte Neufeldsche Tropinlehre ein entschiedener Fortschritt gegenüber der älteren Phagocytentheorie Metschnikoffs, die heute wohl nur noch von ihrem verdienstvollen Begründer und einigen wenigen anderen Forschern festgehalten wird, als in ihr die Erkenntnis zum Ausdruck kommt, daß die Phagocytose allein, ohne Mitwirkung der Körpersäfte, den infektiösen Bakterien gegenüber ohnmächtig ist; aber auch

---

[1]) Untersuchungen über die Pathogenese des Ulcus ventriculi usw. (Zieglers Beitr. 13, 309, 1893).

[2]) Über peptische Magengeschwüre usw. (Virchows Archiv 184, 360, 1906) und: Einige Versuche zur Frage der Autodigestion (Centralbl. f. path. Anat. 18, Nr. 1, 1907).

[3]) Über die Einwirkung der proteolytischen Fermente, Pepsin und Trypsin, auf Milzbrandbacillen (Arbeiten a. d. Path. Inst. zu Tübingen, 3, Heft 2, 1901).

mit der Zubilligung einer solchen, durch das Serum bedingten bactericiden Wirksamkeit wird den Leukocyten nach den obenerwähnten entgegenstehenden Untersuchungsresultaten mehr, als sich beweisen läßt, eingeräumt.

Wie unzulänglich und verschoben häufig das Bild ist, welches uns künstliche Versuchsanordnungen in vitro von den bezüglichen natürlichen Vorgängen im lebenden Organismus geben, das lehren diese ingeniösen, mit größter Sorgfalt und vollendeter Technik angestellten Experimente Wrights und seiner Nachfolger, sowie diejenigen Neufelds und seiner Schüler wiederum aufs deutlichste. Während, wie gesagt, im Reagensglas weder das Normalserum noch auch das Immunserum eine ausgesprochene bactericide Wirkung auf Staphylokokken und namentlich Tuberkelbacillen ausübt, lösen sich, wie ich aus zahlreichen eigenen Beobachtungen weiß, im natürlich immunen oder künstlich immunisierten Organismus beide Bakterienarten großenteils bereits im Serum unter bakteriolytischen Erscheinungen auf, nicht erst in den Phagocyten; und während unter dem Deckglas im Wrightschen Versuche stets eine sehr große Menge beider Bakterien phagocytiert werden, tritt im immunisierten Organismus bei den Tuberkelbacillen die leukocytäre Phagocytose so zurück, daß sie hier schon aus quantitativen Gründen als maßgebendes Adjuvans der Bakterienzerstörung gar nicht in Betracht gezogen werden könnte; bei den Staphylokokken findet allerdings auch in vivo reichliche leukocytäre Phagocytose statt, betrifft aber doch immer nur den kleineren Teil der injizierten Kokken, der größere löst sich auch hier unter bakteriolytischen Erscheinungen direkt in der Gewebsflüssigkeit auf.

Ich würde es bedauern, wenn die höchst interessanten Versuchsergebnisse über Opsonine und Tropine, deren praktische Bedeutung für Diagnose und Behandlung von Infektionskrankheiten durch obige Kritik in keiner Weise berührt wird, dazu Anlaß geben sollten, die Immunitätsforschung wieder in die Bahnen der seit den epochemachenden Entdeckungen über die bactericiden Wirkungen des zellfreien Blutserums fast allgemein aufgegebenen Metschnikoffschen Phagocytentheorie, die ich für einen Irrtum halte, zu lenken.

Zur Kenntnis der Temperatur im menschlichen Magen.

Von

Dodo Rancken und Robert Tigerstedt.

Mit 3 Figuren im Text und 1 Tafel.

(Aus dem physiologischen Institut der Universität Helsingfors.)

Im Jahre 1889 teilte Quincke[1]) einige Beobachtungen über die Temperatur im Magen bei einem Knaben, dem wegen einer Ösophagusstriktur eine Magenfistel angelegt worden war, mit. Seine wichtigsten Resultate waren etwa folgende.

Im leeren Magen war die Temperatur durchschnittlich um 0,12° C höher als die gleichzeitig gemessene Temperatur des Rectums; maximale Differenz + 0,4°, bzw. — 0,4°. Letztere stellt indessen, wie Quincke bemerkt, möglicherweise einen Beobachtungsfehler dar.

Während der Verdauung 1 bis $1^1/_2$ Stunden nach dem Mittagsessen war die Temperatur gleich oder ± 0,1° der Temperatur unmittelbar vor der Mahlzeit.

In einer größeren Reihe von Beobachtungen wurde ferner der Temperaturausgleich zwischen Mageninhalt und Magenwandung verfolgt, und zwar wurde hierbei die Temperatur des Magens wie die des Rectums in Zwischenräumen von 1 bis mehreren Minuten abgelesen. Die eingeführten Flüssigkeiten waren Wasser, Milch, Milchsuppe in Mengen von 200 bis 500 ccm.

Bei Versuchen mit kaltem Wasser von 4,4 bis 7,5° vollzog sich der Temperaturausgleich in den ersten fünf Minuten schnell, indem selbst Flüssigkeitsmengen von $^1/_2$ l um 19 bis 20° erwärmt wurden. Dann schritt die Erwärmung langsamer und immer langsamer vor, so daß die Magentemperatur

---

[1]) H. Quincke, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol **25.** 375, 1889.

noch nach $^1/_2$ Stunde etwa 0,5 bis 1,0^0 unter der des Rectums lag.

Mit heißem Wasser von 44,1 bis 49^0 war der Mageninhalt schon nach 15 Minuten gewöhnlich nur einige Zehntel, ausnahmsweise noch 1^0 wärmer als der Körper.

Sehr ähnlich dem heißen Wasser verhielt sich die heiße Milch, doch schien der Temperaturausgleich langsamer zu erfolgen als beim Wasser, was nach Quincke von der dishomogenen und vielleicht durch Gerinnung dicklichen Beschaffenheit der Milch abhängig war. Bei einem Versuch mit Milchsuppe trat die Verlangsamung noch deutlicher hervor.

Endlich zeigten Versuche mit lauwarmer Milch von 18 bis 28^0, daß der Temperaturausgleich entschieden langsamer stattfindet als bei gleich reichlich zugeführtem kaltem Wasser.

Auch wir haben die Gelegenheit gehabt, an einem Knaben mit Magenfistel einige entsprechende Beobachtungen zu machen, über welche wir hier kurz berichten werden.

Am 13. November 1900 trank der Knabe, der damals 4 Jahre alt war, aus Versehen Lauge, und infolgedessen entwickelte sich allmählich bei ihm eine vollständige Striktur der Speiseröhre, wegen welcher ihm am 3. Mai 1901 eine Magenfistel angelegt wurde. Etwa ein Jahr später stellte Hornborg[1]) an ihm eine Versuchsreihe an, um zu ermitteln, ob die Beobachtungen Pawlows hinsichtlich der psychischen Absonderung von Magensaft beim Hunde auch für den Menschen gültig waren.

Jetzt, nach etwa sechs Jahren, ist der Knabe noch am Leben; sein Ernährungszustand ist nicht gerade schlecht, er hat indessen ein ziemlich schwächliches Aussehen, und er hustet etwas. Sonst keine Störungen.

Zur Temperaturmessung benutzten wir die von Benedict und Snell[2]) beschriebene bolometrische Methode, betreffend deren Einzelheiten der eine von uns (R.) in einer im Skandinavischen Archiv für Physiologie demnächst erscheinenden Abhandlung näher berichten wird. Die Empfindlichkeit unserer Apparate war so abgemessen, daß 1 mm an der Galvanometerskala einer Temperaturdifferenz von 0,0215^0 C entsprach.

---

[1]) Hornborg, Skand. Arch. f. Physiol. **15**, 228, 1904.

[2]) Benedict und Snell, Arch. f. d. ges. Physiol. **88**, 492, 1901.

Es wurde die Temperatur im Magen und im Rectum jede zweite Minute gemessen. Die Temperaturveränderungen im Magen und im Rectum wurden also in Intervallen von je vier Minuten verfolgt, und zwischen je zwei Bestimmungen der Magentemperatur fiel eine Bestimmung der Rectaltemperatur.

Die Dauer jedes einzelnen Versuches betrug etwa $1^1/_2$ Stunde; es war uns nämlich nicht möglich, den Knaben zu länger dauernden Versuchen zu bewegen.

Das Rectalbolometer wurde 10 cm tief in das Rectum, und das Magenbolometer 6 cm tief in den Magen eingeführt.

Alle Versuche wurden etwa zwischen 11,30 vorm. und 1,30 nachm. gemacht. Der Knabe hatte sein Frühstück etwa um 7 Uhr vorm. genossen und seitdem nichts zu sich genommen. Der Versuch begann immer damit, daß die Temperatur des Magens und des Rectums ohne Aufnahme von Nahrung bestimmt wurde. Nach einer genügenden Zahl Bestimmungen wurde das Magenbolometer herausgenommen und die auf verschiedener Temperatur erwärmte Kost — Milchsuppe (Gerstengrütze mit Milch gekocht) allein oder mit zwei darin gut gemischten Eiern — durch die Fistel hineingegossen. Diese „Mahlzeit", nach welcher sich der Knabe in hohem Grade sehnte, da er zu dieser Zeit sehr hungrig war, dauerte nur etwa 2 bis 3 Minuten. Unmittelbar darauf wurde das Bolometer wieder in den Magen hineingeführt und die Temperaturbeobachtungen fortgesetzt.

In erster Linie teilen wir einen Versuch mit, wo die Temperatur des leeren Magens verhältnismäßig lange verfolgt wurde.

Versuch I. Vgl. Fig. 1.

Zeit	Rectal-temperatur	Zeit	Magen-temperatur
		12,35	38,12
12,37	37,74	,39	38,04
,41	37,78	,43	38,00
,45	37,76	,47	37,95
,49	37,74	,51	37,93
,53	37,69	,55	37,91
,57	37,67	,59	37,87
1,01	37,65	1,03	37,87
,05	37,63	,07	37,85
,09	37,61	,11	37,82

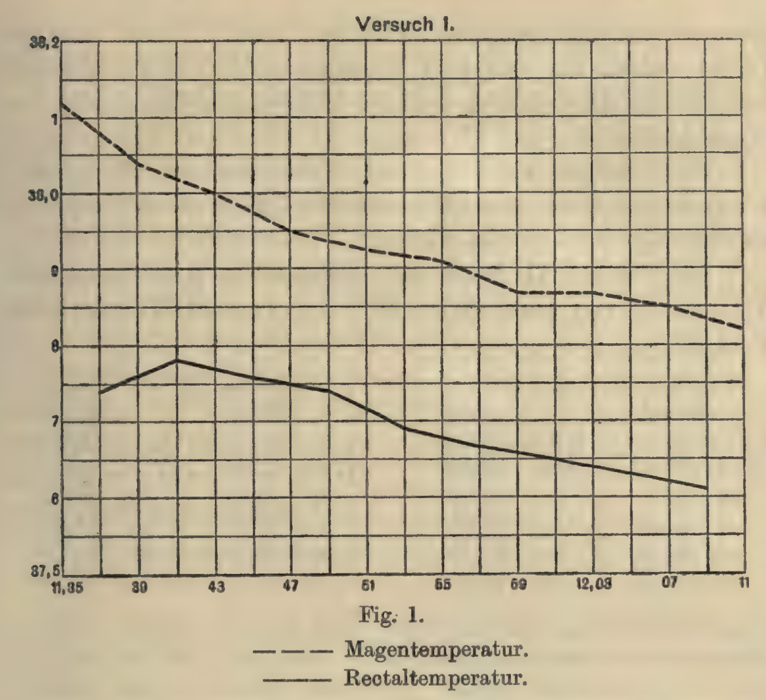


Fig. 1.

— — — Magentemperatur.
——— Rectaltemperatur.

Der Knabe war hier wie auch in allen übrigen Versuchen von der Schule den etwa 20 Minuten langen Weg nach dem physiologischen Institut zu Fuß gegangen, und seine Körpertemperatur war daher anfangs ziemlich hoch. Als er nun ruhig im Bette lag, sank die Körpertemperatur, wie das beim ruhig liegenden Menschen immer der Fall ist. Die anfängliche Steigerung der Rectaltemperatur von 37,74 auf 37,78 dürfte nur davon abhängig sein, daß das Bolometer bei der ersten Beobachtung die richtige Temperatur noch nicht angenommen hatte. Von da ab erfolgt das Sinken ganz geradlinig, und zwar verläuft der Temperaturfall ganz parallel an beiden Orten, so daß die Temperatur des Magens konstant um etwa 0,20 ° C höher ist als die des Rectums. Wir bemerken, daß dies der größte Unterschied ist, den wir bei unseren allerdings nur wenigen Versuchen beim leeren Magen beobachtet haben.

Der hier erscheinende Parallellismus zwischen Magen- und Rectaltemperatur zeigt, daß im betreffenden Versuche die Magentemperatur ausschließlich von denjenigen Verhältnissen, welche die allgemeine Körpertemperatur beeinflussen, abhängig

gewesen ist, und daß also im Magen keine Prozesse stattgefunden haben, die eine vom allgemeinen Verlauf der Körpertemperatur abweichende, örtliche Temperaturschwankung bewirkt hätten.

Zur Illustration der Art und Weise, wie sich die Magentemperatur infolge einer kälteren oder wärmeren Kost verändert, mögen folgende Versuche dienen.

Im Versuch II hatte die eingegossene Milchsuppe eine Temperatur von etwa 34 bis 35 °, im Versuch III eine von etwa 40 °.

Versuch II. Vgl. Fig. 2.

Zeit	Rectal-temperatur	Zeit	Magen-temperatur
12,12	37,69	12,14	37,67
,16	37,69	,18	37,72
,20	37,69	,22	37,69
,24	37,67	,26	37,72
,28	37,69	,30	37,78
12,30 bis 12,33. Eingießen von ½ l Milchsuppe von etwa 34 bis 35 °			
		12,35	34,73
12,37	37,67	,39	35,59
,41	37,65	,43	36,28
,45	37,63	,47	36,56
,49	37,59	,51	36,86
,53	37,54	,55	37,05
,57	37,52	,59	37,24
1,01	37,52	1,03	37,31
,05	37,52	,07	37,39
,09	37,54	,11	37,46
,13	37,54	,15	37,50
,17	37,57	,19	37,57
,21	37,59	,23	37,59
,25	37,61	,27	37,57
,29	37,59	,31	37,61
,33	37,59	,35	37,63
,37	37,61	,39	37,63
,41	37,63	,43	37,63
,45	37,63	,47	37,63
,49	37,63	,51	37,61

Versuch III. Vgl. Fig. 3.

Zeit	Rectal-temperatur	Zeit	Magen-temperatur
11,38	37,59	11,40	37,63
,42	37,59	,44	37,65
,46	37,57	,48	37,61
,50	37,50	,52	37,59
11,52 bis 11,54. Eingießen von ½ l Milchsuppe von etwa 40 °			
11,56	37,52	11,58	39,97
12,00	37,52	12,02	39,56
,04	37,48	,06	39,11
,08	37,44	,10	38,74
,12	37,44	,14	38,43
,16	37,39	,18	38,17
,20	37,39	,22	38,04
,24	37,42	,26	37,89
,28	37,42	,30	37,76
,32	37,42	,34	37,67
,36	37,44	,38	37,63
,40	37,44	,42	37,59
,44	37,37	,46	37,52
,48	37,35	,50	37,50
,52	37,37	,54	37,48
,56	37,39	,58	37,48

Zu den Figuren 2 und 3 ist zu bemerken, daß die Ordinaten in $^1/_{10}$ des Maßstabes der übrigen hier mitgeteilten Temperaturkurven gezeichnet sind.

Von 12 Uhr 19 Min. an ist die Temperatur des Magens im Versuch II gleich der des Rectums.

Wie aus den Figuren 2 und 3 ersichtlich, verändert sich die Temperatur des Mageninhaltes nach Eingießen einer kälteren oder wärmeren Milchsuppe sehr regelmäßig; in beiden Fällen erfolgt der Temperaturausgleich, wie es scheint, rein physikalisch, ohne irgendwelche Anzeichen einer durch die Magentätigkeit hervorgerufenen Störung. In beiden Versuchen fand sich vor dem Eingießen der Suppe nur ein ganz unerheblicher Unterschied zwischen der Magen- und der Rectaltemperatur vor. Im Versuch II erreicht die Magentemperatur nach etwa 40 Minuten die Temperatur des Rectums wieder; im Versuch III ist die Magentemperatur nach 40 Minuten noch 0,02° höher als die Rectaltemperatur.

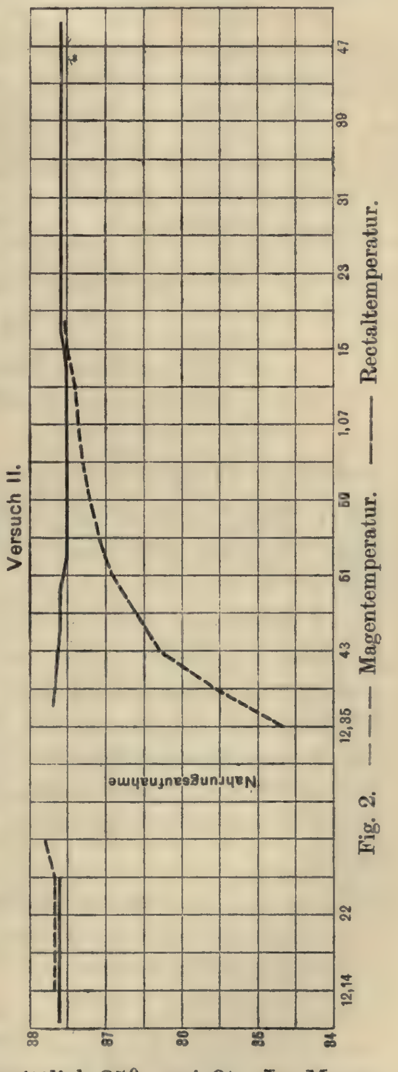


Fig. 2. – – – Magentemperatur. ——— Rectaltemperatur.

Nach Aufnahme einer Kost, deren Temperatur sich nur um etwa ± 3° C von der des Magens unterscheidet, dauert es also rund $^3/_4$ Stunde, bis die Magentemperatur die mittlere Temperatur des Körperinneren wieder erreicht hat.

Es wird im allgemeinen angenommen, daß der erwachsene Mensch täglich etwa $1^1/_2$ l Wasser von durchschnittlich 15° und $1^1/_2$ kg Essen von durchschnittlich 25° genießt. Im Magen muß daher im Verlaufe von 24 Stunden sehr erhebliche Temperaturvariation stattfinden, und während einer verhältnismäßig langen Zeit wird die Temperatur des Magens erheblich

unter der der übrigen inneren Organe herabsinken, wie andererseits nach Aufnahme von warmen Getränken und Suppen die Magentemperatur um ein beträchtliches die Temperatur anderer Organe übertreffen muß. Da nun der Magen unter dem Ein-

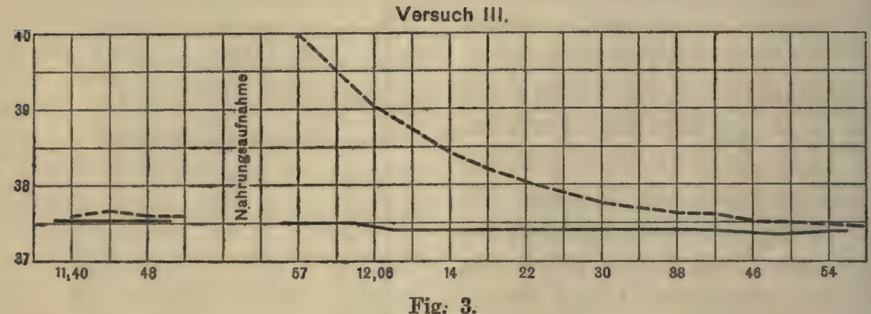


Fig. 3.

— — — Magentemperatur.
——— Rectaltemperatur.

fluß dieser Temperaturschwankungen keine Störungen erfährt, folgt, daß er im Vergleich mit den übrigen Organen der Bauchhöhle für solche Schwankungen sehr wenig empfindlich sein muß.

Versuche, bei welchen sich die Temperatur der eingegossenen Nahrung so erheblich wie in den jetzt mitgeteilten von der des Magens unterscheidet, eignen sich indessen nicht zur Erörterung der Frage, ob bei der Magenverdauung eine von dieser abhängige Temperaturveränderung nachweisen läßt oder nicht. Wir stellten daher einige Versuche an, wo die Temperatur der Nahrung möglichst gleich der des ruhenden Magens sein sollte.

Versuch IV. Vgl. Fig. 4 (Tafel).

Zeit	Rectal-temperatur	Zeit	Magen-temperatur
12,07	37,16	12,09	37,46
,11	37,26	,13	37,44
,15	37,29	,17	37,42
,19	37,29	,21	37,42
,23	37,29	,25	37,39
,27	37,29	,29	37,39

12,29 bis 12,33. Eingießen von $^1/_2$ l Milchsuppe von etwas mehr als 37°.

Versuch IV. Vgl. Fig. 4 (Tafel). (Fortsetzung).

Zeit	Rectal-temperatur	Zeit	Magen-temperatur
		12,35	37,24
12,37	37,31	,39	37,44
,41	37,31	,43	37,46
,45	37,33	,47	37,48
,49	37,31	,51	37,46
,53	37,29	,55	37,44
,57	37,29	,59	37,44
1,01	37,29	1,03	37,42
,05	37,26	,07	37,39
,09	37,29	,11	37,37
,13	37,29	,15	37,35
,17	37,29	,19	37,35
,21	37,29	,23	37,33
,25	37,29	,27	37,33
,29	37,29	,31	37,33
,33	37,26	,35	37,29
,37	37,24	,39	37,29

Die Rectaltemperatur betrug hier vor dem Essen 37,29°. Nach dem Essen ist sie anfangs 37,31°, sinkt dann mit einigen unbedeutenden Schwankungen wieder auf 37,29° und endlich auf 37,24°. Die Magentemperatur war vor dem Essen 37,39°. Die eingegossene Milchsuppe war etwas wärmer, weshalb die Temperatur des Mageninneren auf 37,44 bis 37,48° ansteigt (bei der Beobachtung um $12^h\ 35'$ hatte das Magenbolometer sich noch nicht auf die wirkliche Temperatur eingestellt). Von $12^h\ 47'$ an, d. h. 12 Minuten nach der Nahrungsaufnahme, sinkt die Magentemperatur ganz gleichmäßig; um etwa $1^h\ 10'$ ist sie 0,1° höher als die Rectaltemperatur, der Temperaturdifferenz vor dem Essen entsprechend. Sie sinkt aber immer weiter und ist schließlich, während der letzten 20 Minuten des Versuches, nur 0,04 bis 0,05° höher als die Rectaltemperatur.

In diesem Versuche finden wir also keine Gründe für die Annahme, daß die Magenverdauung mit einer deutlich nachweisbaren Temperaturerhöhung stattfinden würde.

Um größere Ansprüche auf die Leistung des Magens zu stellen, fügten wir in den beiden folgenden Versuchen zu der gewöhnlichen Milchsuppe noch je 2 Eier hinzu.

Versuch V. Vgl. Fig. 5 (Tafel).

Zeit	Rectal-temperatur	Zeit	Magen-temperatur
11,47	37,20	11,49	37,33
,51	37,37	,53	37,39
,55	37,37	,57	37,37
,59	37,35	12,01	37,35
12,03	37,35	,05	37,33
12,05 bis 12,07. Eingießen von $^1/_2$ l Milchsuppe mit 2 Eiern; Temperatur etwa 38°.			
12,11	37,35	12,13	37,44
,15	37,33	,17	37,39
,19	37,31	,21	37,33
,23	37,29	,25	37,31
,27	37,29	,29	37,31
,31	37,26	,33	37,29
,35	37,24	,37	37,29
,39	37,22	,41	37,31
,43	37,22	,45	37,31
,47	37,22	,49	37,31
,51	37,20	,53	37,31
,55	37,16	,57	37,26
,59	37,14	1,01	37,25
1,03	37,14	,05	37,24
,07	37,11	,09	37,23
,11	37,14	,13	37,22

Vor dem Essen ist die Temperatur im Magen und im Rectum fast ganz gleich (37,35°). Das Eingießen der etwa 38° warmen Milchsuppe bewirkt eine anfängliche Steigerung der Magentemperatur auf 37,44°. Letztere sinkt aber alsdann herab, und um $12^h\ 21'$ ist die Magentemperatur nur um 0,02° höher als die Rectaltemperatur. Von diesem Augenblick an tritt allmählich eine immer mehr ausgeprägte Differenz zwischen beiden zum Vorschein: die Magentemperatur bleibt bis $12^h\ 53'$ fast konstant auf 37,31, während die Rectaltemperatur ununterbrochen herabsinkt, so daß der Unterschied beider schließlich etwa 0,1° C wird. Dann fängt indessen auch die Magentemperatur an zu sinken, und zwar verläuft dieses Sinken fast genau parallel dem fortgesetzten Sinken der Rectaltemperatur.

Hier könnte man also an eine durch die Verdauung hervorgerufene Wärmetönung im Magen denken: die im Rectum gemessene Körpertemperatur sinkt im Verlaufe des Versuches

herab, dasselbe ist auch mit der Magentemperatur der Fall, diese nimmt aber entschieden langsamer ab und, während fast einer halben Stunde bleibt sie, trotz der ununterbrochen sinkenden Rectaltemperatur, konstant. Es ließe sich aber auch denken, daß die etwas über die Körperwärme erwärmte Kost den Temperaturfall des Magens verzögert und also den sonst parallelen Verlauf der Magen- und der Rectaltemperatur für eine Zeitlang aufgehoben hat.

Für die Richtigkeit der letzteren Deutung scheint folgender Versuch zu sprechen, wo die Temperatur der eingegossenen Nahrung etwas niedriger als die Körpertemperatur war.

Versuch VI. Vgl. Fig. 6 (Tafel).

Zeit	Rectal-temperatur	Zeit	Magen-temperatur
11,49	37,37	11,51	37,54
,53	37,39	,55	37,54
,57	37,39	,59	37,52
12,00 bis 12,02. Eingießen von 1/2 l Milchsuppe mit 2 Eiern. Temperatur etwa 37,3°.			
12,03	37,39	12,05	36,99
,07	37,35	,09	37,07
,11	37,33	,13	37,14
,15	37,31	,17	37,20
,19	37,29	,21	37,22
,23	37,25	,25	37,24
,27	37,22	,29	37,24
,31	37,22	,33	37,26
,35	37,22	,37	37,29
,39	37,24	,41	37,31
,43	37,24	,45	37,33
,47	37,24	,49	37,35
,51	37,25	,53	37,35
,55	37,24	,57	37,35
,59	37,24	1,01	37,35
1,03	37,24	,05	37,35

In diesem Versuch war die Temperaturdifferenz zwischen Rectum und Magen vor dem Essen etwa 0,15°. Das Essen hatte eine etwas geringere Temperatur als der Magen, weshalb die Magentemperatur anfangs erheblich (auf 36,99°) herabsinkt und erst 25 Minuten nach dem Essen die Temperatur des Rectums erreicht. Ihrerseits sinkt diese eine Zeitlang ab und

bleibt schließlich konstant auf 37,24°. Etwa zu gleicher Zeit wird auch die Magentemperatur konstant, und zwar ist diese jetzt 0,11° höher als die Temperatur des Rectums.

Da also die Magentemperatur verhältnismäßig mehr als die Rectaltemperatur herabsinkt, glauben wir folgern zu können, daß die Verdauung hier keine besondere Wärmebildung im Magen verursacht hat.

Aus diesen Versuchen dürfte also hervorgehen, daß nach Aufnahme einer breiigen Kost in einer Menge von $^1/_2$ l während der ersten Stunde keine durch den Verdauungsprozeß bewirkte Temperatursteigerung sich deutlich nachweisen läßt.

Dieses Ergebnis scheint anderen Angaben über die Wärmetönung bei der Drüsensekretion und der Verdauung nicht zu widerstreiten. So geben Bayliss und Hill[1]) an, daß die Sekretion der Submaxillarisdrüse mit keinem nachweisbaren Temperaturanstieg verbunden ist, und v. Lengyel[2]) hat vor kurzem Versuche veröffentlicht, aus welchen er schließt, daß die Verdauung der Eiweißkörper mit Magensaft „mit einer außerordentlich minimalen Wärmeproduktion einhergeht".

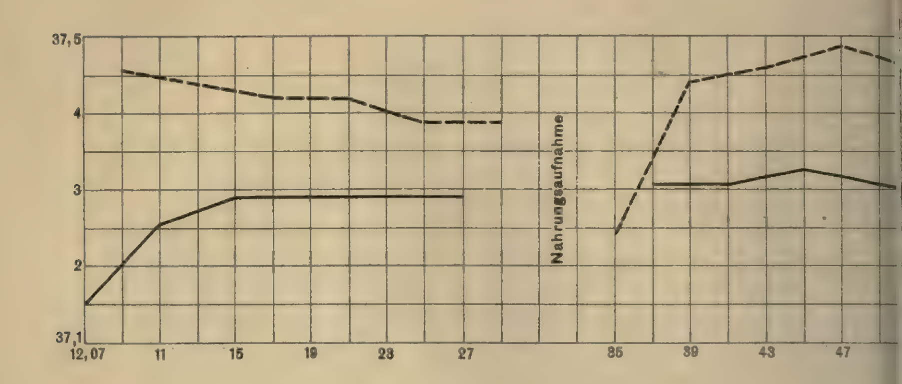
Wenn dem so ist, so wird die im Vergleich mit der Rectaltemperatur höhere Temperatur, die wir nach stattgefundenem Wärmeausgleich mit der aufgenommenen Nahrung im Magen beobachten, wohl größtenteils nicht durch Vorgänge im Magen selbst, sondern durch den Einfluß der Leber zu erklären sein.

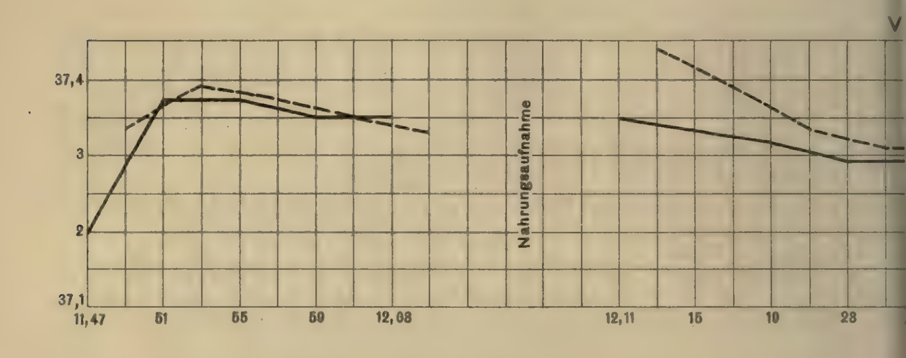
Um etwaige Mißverständnisse vorzubeugen, wollen wir indessen ausdrücklich bemerken, daß wir mit diesen Ausführungen nicht haben behaupten wollen, daß die Magentätigkeit überhaupt ohne jede Wärmetönung stattfindet: diese ist aber, wie es scheint, im allgemeinen so gering, daß sie sich nicht unverkennbar nachweisen läßt. Selbstverständlich gilt dies alles nur von der ersten Stunde nach der Nahrungsaufaufnahme, da es uns nicht möglich war, unsere Beobachtungen über längere Perioden auszudehnen.

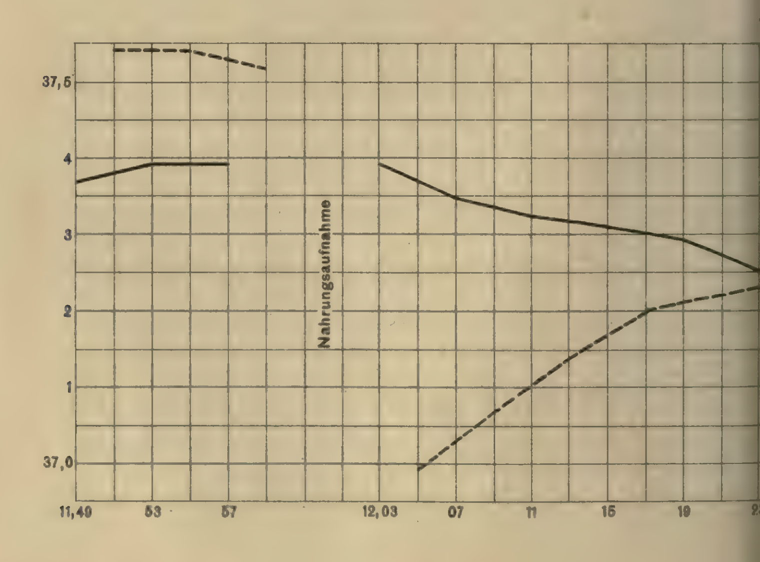
---

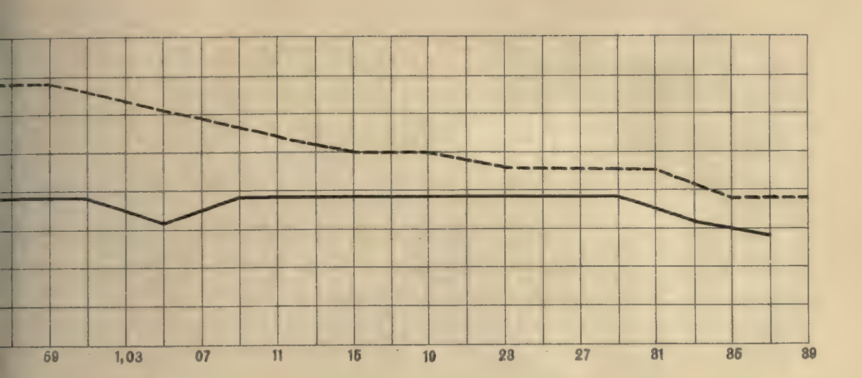
[1]) Bayliss und Hill, Journ. of Physiol. 16, 351, 1894.

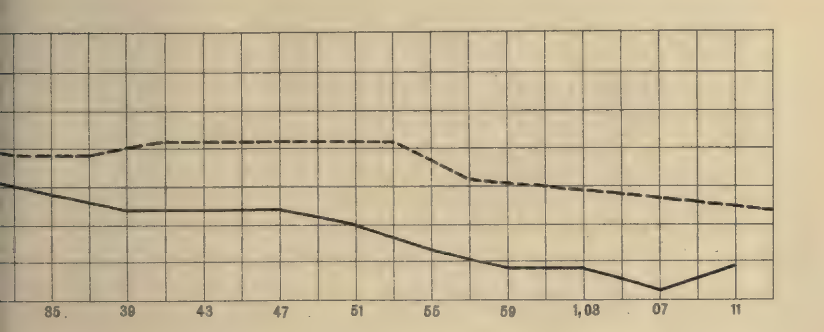
[2]) v. Lengyel, Arch. f. d. ges. Physiol. 115, 7, 1906.

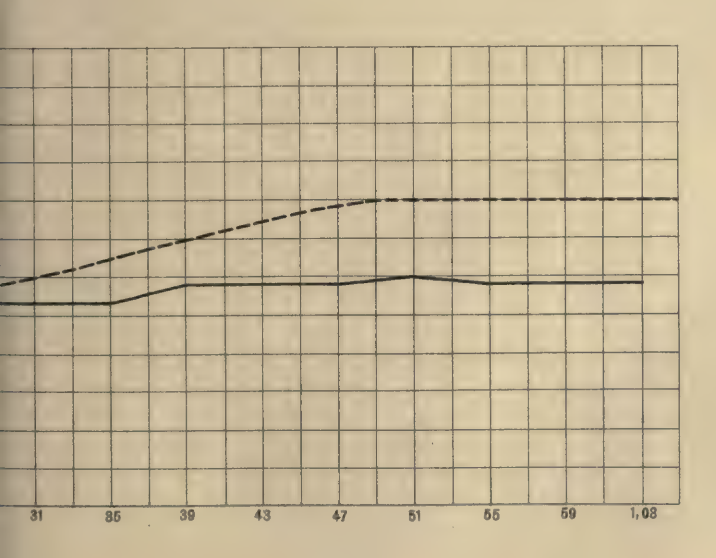

37,5
4
3
2
37,1
12,07
11
15
19
23
27
35
39
43
47
Nahrungsaufnahme


V
37,4
3
2
37,1
11,47
51
55
59
12,08
12,11
15
10
28
Nahrungsaufnahme


37,5
4
3
2
1
37,0
11,49
53
57
12,03
07
11
15
19
Nahrungsaufnahme







Verlag von Julius Springer in Berlin.

Methode zur Bestimmung der zirkulierenden Blutmenge beim lebenden Tiere.

Von

N. Zuntz und J. Plesch.

Mit 2 Figuren im Text.

(Aus dem tierphysiologischen Institut der Landwirtschaftlichen Hochschule zu Berlin.)

Bis vor kurzem galt nur die Welckersche Methode und ihre verschiedenen Modifikationen als exaktes Mittel zur Bestimmung der Blutmenge. Bei dieser Methode waren alle Aufgaben, welche die Beeinflussung der Blutmenge durch physiologische, pharmakologische und pathologische Bedingungen betreffen, nur lösbar durch vergleichende Untersuchung einer großen Anzahl von Tieren wobei man von der Voraussetzung ausgehen mußte, daß diese Tiere ursprünglich gleichen Prozentgehalt an Blut besessen hätten. Angesichts der Unsicherheit dieser Voraussetzung muß eine Methode, welche die Blutmenge am lebenden Organismus ohne tiefere Eingriffe bestimmen läßt, auch dann von großer Bedeutung sein, wenn sie nicht die Exaktheit der Welckerschen Methode erreicht.

Bisher sind zwei Methoden dieser Art zur Anwendung gekommen. Die eine stützt sich auf die Erfahrung, welche der eine von uns mit Cohnstein[1]) über die Langsamkeit des Austritts isotonischer Lösungen aus der Blutbahn gemacht hatte, die andere wohl zuerst von Gréhant und Quinquaud[2]) an-

[1]) J. Cohnstein und Zuntz, Untersuchungen über den Flüssigkeitsaustausch zwischen Blut und Geweben unter verschiedenen physiologischen und pathologischen Bedingungen. Pflügers Arch. **42,** 303, 1888, spez. Kap. III.

[2]) Gréhant und Quinquaud, Mesure du volume de sang contenu dans l'organisme d'un mammifère vivant. C. r. Ac. d. Sc. **94,** 1450 und Journ. de l'anat. et de la phys. **18,** 564, 1883.

gegebene beruht auf der Beimengung einer leicht nachweisbaren Substanz zum strömenden Blute. Bedingung ist hier, daß keine merkliche Menge der Substanz im Kreislauf zerstört wird oder in die Gewebe übertritt. Diesen Anforderungen genügt, nach Gréhant und Quinquauds inzwischen vielfach bestätigter Erfahrung, das Kohlenoxyd. Die Autoren verfuhren in der Weise, daß sie eine gemessene Menge dieses Gases einatmen ließen und die Sauerstoffkapazität des Blutes durch Auspumpen vor und nach der Kohlenoxydatmung ermittelten. Die eingeatmete Menge dividiert durch die Abnahme der Sauerstoffkapazität, welche gleich ist dem Prozentgehalt an Kohlenoxyd im Blute, ergibt die Anzahl 100 ccm Blutes im Tierkörper.

Die genannten Autoren haben ihre Methode nur am Hunde erprobt. Sie war auch wegen der relativ großen Menge Blut, welche zur Auspumpung nötig war, zu Versuchen an Menschen wenig geeignet.

Diesen Übelstand hat Haldane im Verein mit Smith[1]) dadurch zu beseitigen gesucht, daß er eine Methode ausbildete, welche schon in zirka einem Kubikzentimeter Blut den Kohlenoxydgehalt zu bestimmen gestattete. Die Methode ist von Haldane und seinen Schülern sowie von Oerum[2]) in größeren Versuchsreihen benutzt worden.

Wir schließen uns durchaus den Ausführungen Haldanes an, daß die Verwendung von Kohlenoxyd innerhalb der angegebenen Grenzen gesundheitlich vollkommen unbedenklich ist, schon die Tatsache, daß Lokomotivführer, welche längere Tunnels passieren, täglich viel stärkere Kohlenoxydmengen in das Blut aufnehmen, beweist dies (vgl. Mosso, La respiration dans les tunnels. Archives ital. de Biologie t. 34 u. 35).

Es ist uns nicht gelungen, nach der Haldaneschen Me-

---

[1]) John Haldane & S. Lorrain Smith, The mass and oxygen capacity of the blood in men. Journ. of Physiol. **25**, 331, 1900; vgl. auch Haldane, ebenda **18**, 463. A method of detecting and estimating carbonic oxide in air und **22**, 232. Methode der Carmintitrierung; S. 375 und 475 Verbrennung von CO mit Hilfe der Platinspirale in einer Bürette. Gordon Douglas ebenda **33**, 493, 1906. Vergleich der Kohlenoxyd- und Welcker-Methode an Kaninchen.

[2]) H. P. T. Oerum, Über die Einwirkung des Lichtes auf das Blut. Pflügers Archiv **114**, 1.

thode der Titrierung mit Carminlösung gut übereinstimmende Resultate zu erlangen.

Wir versuchten dann an Stelle des Carmins eine Farbengleichheit des kohlenoxydhaltigen Blutes mit dem vorher gewonnenen Normalblut desselben Individuums dadurch herzustellen, daß wir diesem Normalblut abgemessene Mengen eines vorher mit Kohlenoxyd vollständig gesättigten Anteils desselben Blutes hinzufügten. Das so herbeigeführte Mischungsverhältnis mußte dem Verhältnis entsprechen, in welchem Sauerstoff- und Kohlenoxydhämoglobin in dem nach der Inhalation gewonnenen Blut enthalten waren. Wir bedienten uns bei der Farbenvergleichung des von einem von uns beschriebenen Chromophotometers.[1]) Die Details der Technik sind in der eben zitierten Abhandlung mitgeteilt.

Auch diese Methode ist zwar beim Menschen wegen der geringen erforderlichen Blutmenge wohl anwendbar, aber doch noch recht umständlich und vom Farbensinn des Beobachters abhängig.

Die außerordentliche Feinheit in der Bestimmung sehr geringer Gasvolumina, mit Hilfe der Wasserdruckmessung, die besonders von Barcroft[2]) und Haldane ausgearbeitet wurde, in Verbindung mit der Möglichkeit, das Kohlenoxyd durch Ferricyanid aus dem Blute zu entbinden, schien uns eine direkte Bestimmung des Kohlenoxyds im Blute zu gestatten.

Nach mannigfachen Tastversuchen kamen wir zu der im Folgenden beschriebenen Methodik, welche es ermöglicht, in einem Kubikzentimeter Blut den Kohlenoxydgehalt mit einer Genauigkeit, welche der einer guten Blutgasanalyse mit Hilfe der Quecksilberpumpe gleichkommt, zu ermitteln. Unter ihrer Benutzung besteht die Bestimmung der Blutmenge eines Menschen oder Tieres aus folgenden Etappen:

1. Einatmung einer gemessenen Menge von Kohlenoxyd.
2. Blutentnahme.
3. Austreibung des Kohlenoxyds aus dem Blute.
4. Verbrennungsanalyse des ausgetriebenen Kohlenoxyds.

Ad 1. Das Versuchsobjekt wird mit Hilfe einer Maske,

---

[1]) Plesch, Chromophotometer usw. Zeitschr. f. klin. Med. 69, 1907.

[2]) J. Barcroft, Journ. of Physiol. Suppl. 23, 64.

Trachealkanüle oder eines gewöhnlichen Mundstücks, bei verschlossener Nase mit dem nebenstehend skizzierten Atemapparat verbunden. Derselbe stellt einen geschlossenen Luftkreislauf dar. Die Inspiration erfolgt aus dem ca. 3 Liter fassenden Gummisack *s* durch das Inspirationsventil *J*. Die Exspirationsluft geht durch das Ventil *E* in die Absorptionsvorrichtung *A* für die exspirierte Kohlensäure. Wir fanden zu diesem Zwecke die von dem Drägerwerk in Lübeck seinen Rettungsapparaten beigegebenen Kalipatronen sehr bequem und ausgezeichnet wirksam. Von hier geht die Luft nach *S* zurück. Zwischen *S* und *J* befindet sich eine Zuleitung für Sauerstoff, zwischen *J* und *M* ein enges Rohr für das in der Bürette *B* abgemessene chemisch-reine Kohlenoxyd.

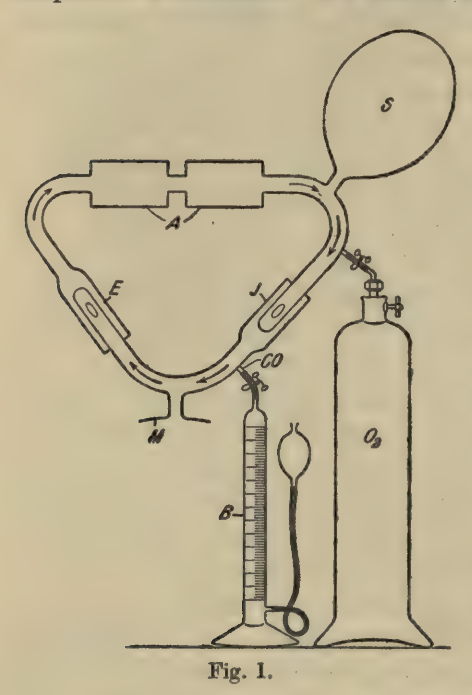


Fig. 1.

Nach zwei bis drei Atemzügen aus dem Sack, welchen eine möglichst vollkommene Exspiration vorangehen soll, läßt man langsam die in der Bürette bereits genau abgemessene Menge Kohlenoxyd in den Stromkreis eintreten. Bei annährend normaler Blutbeschaffenheit nimmt man zweckmäßig pro Körperkilo $2^1/_2$ bis 3 ccm Kohlenoxyd, bei Anämie entsprechend dem verminderten Hämoglobingehalt weniger, und zwar so, daß auf 1 g voraussichtlich vorhandenen Hämoglobins nicht mehr als 0,3 ccm CO entfällt.

Der Eintritt des Kohlenoxyds ist auf etwa 3 Minuten zu verteilen. Nach Beendigung des Einströmens wird noch 3 bis 4 Minuten lang weiter geatmet. Hierbei ist darauf zu achten, daß der Sack nicht ganz kollabiert, und eventuell neuer Sauerstoff nachzufüllen. Wir finden unsere Vorrichtung deshalb zweck-

mäßiger als die einfachere von Haldane beschriebene, welcher ohne Ventile aus einem Kautschuksack respirieren läßt, weil das zugeführte Kohlenoxyd in die Lunge gelangt, ohne mit dem übrigen Gase verdünnt zu werden. Bei fortdauernder Atmung werden nun mit Hilfe einer Spritze ca. 5 ccm Blut entnommen und damit der Atmungsversuch beendet. Es empfiehlt sich, in die Spritze ein wenig feingepulvertes Ammonoxalat zur Verhütung der Gerinnung zu bringen. Die Gegenwart einer kleinen Luftblase in der Spritze schadet nichts.

Man könnte bei Verwendung einer sehr feingeteilten Spritze diese direkt zum Einmessen der Blutproben in die Entwicklungspipette benutzen. Wir ziehen es aber vor, hierzu genau ausgewogene Pipetten von 1 ccm zu verwenden. Der Spritzenkolben wird, indem man Luft durch den Kanülenansatz nachtreten läßt, bis zur höchsten Stellung emporgezogen, dann unter Verschluß der Öffnung mit einem Finger vollends entfernt. Man kann auch, was wir in jüngster Zeit vorziehen, mit Hilfe einer mit Schlauch versehenen Stichkanüle das Blut direkt in eine mit einigen Krystallen von Ammonoxalat beschickte Eprouvette einfließen lassen. Man muß hierbei nur möglichst die Berührung des Blutes mit der Luft beschränken, indem man den Schlauch am Boden münden läßt.

Ad 3. Zur Entwicklung des Kohlenoxyds im Verein mit dem im Blute enthaltenen Sauerstoff dienen zylindrische Glasgefäße von etwa 15 ccm Inhalt. Diese Entwicklungspipetten sind unten in eine mittels Kautschukschlauchs und Quetschhahns verschlossene Capillare ausgezogen. Durch die obere, etwa 3 mm weite Öffnung wird 1 ccm einer $^1/_4{}^0/_0$igen Ammoniaklösung eingefüllt. In die so vorbereitete Entwicklungspipette mißt man nun 1 ccm des eben aufgefangenen Blutes ein und mischt durch vorsichtiges Schütteln. Sobald das Blut lackfarben geworden, wird ein Kubikzentimeter gesättigter frischbereiteter Lösung von Ferricyankalium zugefügt und die Pipette sofort mittels Kautschukschlauchs und Quetschhahns oben verschlossen. Nach zirka einer Minute beginnt die Entwicklung der Blutgase, welche man durch nicht zu heftiges Schütteln fördert. Wir empfehlen etwa drei solcher Analysen nebeneinander anzusetzen. Es bleibt dann noch genug Blut zur colorimetrischen Bestimmung des Hämoglobingehalts sowie des

spezifischen Gewichtes und eventl. zur Bestimmung der Kohlenoxydkapazität in einer total gesättigten Probe. Diese letztere Bestimmung sollte namentlich in pathologischen Fällen nie unterlassen werden, weil sie im Verein mit der colorimetrischen Bestimmung erkennen läßt, ob das Hämoglobin des Individuums von normaler Beschaffenheit ist.

Die Gasentwicklung ist nach zirka einer Stunde beendet. Man erkennt es an dem Verschwinden des feinblasigen Schaumes. Man kann nun die Überfüllung der Gase sofort vornehmen, aber auch die Probe 24 Stunden und länger verschlossen stehen lassen.

Ad 4. Zur Bestimmung des Kohlenoxyds dient eine Flasche *V* von etwa 30 ccm Inhalt (Fig. 2).[1]) Die Flasche besteht aus zwei durch einen guten Schliff miteinander verbundenen Teilen. In den unteren ist eine Platinspirale zur Verbrennung des Kohlenoxyds eingeschmolzen. Die Spirale besteht aus 0,1 bis 0,2 mm starkem Draht, während der Zuleitungsdraht 0,8 bis 1,0 mm stark ist. Der Widerstand, d. h. die Länge der dünnen Glühspirale, ist so zu bemessen, daß an den von der Kalilauge benetzten unteren Enden des dicken Drahtes keine Elektrolyse (Gasbläschen) auftritt. Das obere Ende von *V* geht in eine Capillare über, deren Ende seitlich abgebogen etwa 1 cm tief in *V* hineinragt. Die Capillare trägt einen Dreiweghahn *D*, durch welchen sie abwechselnd mit den ebenfalls capillaren Röhren *a* und *b* in Verbindung gesetzt werden kann. Zum Versuch bringt man in das untere Stück von *V* 1 bis 2 ccm 2$^0/_0$ige Kalilauge, fügt dann die schwach nur im oberen Teil der Schliffflächen gefetteten Teile aneinander, sichert die Verbindung mit Hilfe von Gummiringen, die an die Glashaken der beiden Stücke befestigt werden, und evakuiert das Gefäß indem man es mit der Capillare *a* an eine Wasserstrahlpumpe ansetzt. Hierauf wird *a* mit der Entwicklungspipette verbunden. Als Verbindungsstück dient eine Glascapillare, welche in der Mitte eine mit Glasperlen gefüllte kugelige Erweiterung von 1 bis 2 ccm Inhalt besitzt. Die Perlen benetzt man durch Aufsaugen mit einer 0,5$^0/_0$igen Schwefelsäure, deren Überschuß durch Ausblasen entfernt wird. Die Schwefelsäure dient zur

[1]) Unsere Glasapparate sind von der Firma Bleckmann & Burger, Berlin N., Auguststr. 3a, angefertigt.

Absorption des Ammoniakdampfes, welcher durch seine Verbrennung das Resultat fälschen würde. Man verbindet nun in der Fig. 2 skizzierten Weise die Verbrennungsflasche mit der Entwicklungspipette, öffnet den Quetschhahn 1 und den Dreiweghahn. Dann schließt man 1 und läßt durch Öffnen von 2 einen Teil des Gases durch die Schwefelsäure in die kleine

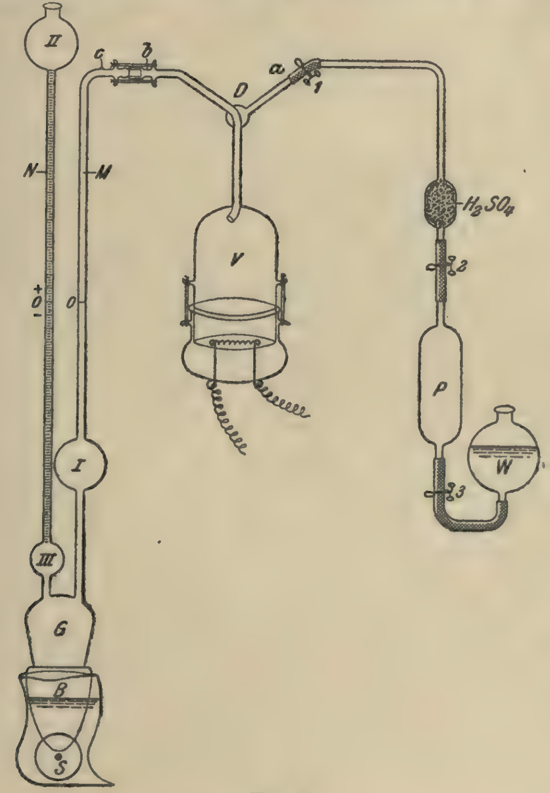


Fig. 2.

Kugel treten. Nach Verschluß von 2 wird dieses Gas in *V* gesaugt. So fährt man fort bis annähernder Spannungsausgleich zwischen *P* und *V* erzielt ist. Jetzt erst stellt man freie Kommunikation her, damit die Spannung sich vollkommen ausgleiche. Nun wird 2 wieder geschlossen und *P* behufs Entbindung des in der Flüssigkeit absorbierten Gases geschüttelt, abermals Kommunikation hergestellt und nun endlich, durch vorsichtiges Öffnen von 3, aus der inzwischen angesetzten Glas-

kugel *W* Wasser in *P* eingelassen, um den Rest des Gases nach *V* zu bringen. Zweckmäßig läßt man auch bei dieser Manipulation niemals alle Quetschhähne zugleich offen. Nach der Entfernung der Entwicklungspipette wird *V* mit Hilfe der Schliffstücke *b*, *c* mit dem Manometerschenkel *M* verbunden. Das Manometer wird an die Wand einer Wasserwanne außen so angehängt, daß sich *V* im Inneren der Wanne unter Wasser befindet. Nach einigen Minuten wird dann in *V* durch Einlassen von reiner Luft Atmosphärendruck hergestellt. Da die Zimmerluft häufig Spuren von Leuchtgas enthält, welche das Resultat fälschen würden und auch ihr hoher CO_2-Gehalt einige Zeit bis zur vollen Absorption brauchen würde, verwendet man zweckmäßig CO_2-freie Luft aus dem Freien. Dieselbe wird in einer Gaspipette über starkverdünnter Kalilauge bereit gehalten. Statt Luft haben wir häufig Sauerstoff aus einer Bombe zum Nachfüllen von *V* benutzt in der Hoffnung, dadurch den Verbrennungsprozeß zu beschleunigen. Der so erzielte Vorteil ist aber nicht nennenswert, da die Verbrennung ohnedies rasch genug erfolgt. Nunmehr wird *D* so gedreht, daß *a* mit *b* kommuniziert, und die Flüssigkeit im Manometerschenkel *M* auf den Nullpunkt eingestellt. Um diese Einstellung zu ermöglichen, ist das Manometergefäß *G* unten durch das Kautschuksäckchen *B* verschlossen, dessen Volum mit Hilfe der Messingfeder und Stellschraube *S* fein geändert werden kann. Nach Einstellung des Manometers auf den 0-Punkt setzt man es durch Drehung von *D* mit *V* in Verbindung und wartet nun unter öfterem Mischen des Wassers in der Wanne, bis das Manometer einen unveränderlichen Stand zeigt oder sich in genau gleichem Maße wie das danebenhängende Thermobarometer ändert.

Als Thermobarometer dient ein dem eben beschriebenen ganz gleiches System. Nach Ablesung des immer wieder im Schenkel *M* auf 0 eingestellten Manometers am Apparat und am Thermobarometer und der Temperatur des Wassermantels schreitet man zur Verbrennung des Kohlenoxyds. Indem man die Platinspirale bis fast zur Weißglut durch einen entsprechend abgestuften elektrischen Strom erhitzt. Wir bedienen uns hierzu in der Regel des Straßenstroms von 110 Volt Spannung unter Einschaltung eines Lampenwiderstands aus fünf Glüh-

lampen, welche man je nach der Dünne des Platindrahts 10 bis 25 kerzig wählt. Wir haben auch wiederholt statt des Straßenstroms einen zweizelligen Akkumulator resp. zwei große Bunsen-Elemente benutzt. Wahrscheinlich würde auch eine kräftige Thermosäule gute Dienste tun. Mit dem Erglühen des Platindrahtes dehnt sich die erwärmte Luft in *V* aus und drückt die Flüssigkeit im Manometerschenkel *M* herunter. Die kugelige Erweiterung *I* des Manometerschenkels *M* nimmt die aus *V* verdrängte Luft auf, während das Wasser in die kugelige Erweiterung *II* des Manometerschenkels *N* emporsteigt. Die Erweiterungen müssen etwa ein Drittel des Inhaltes von *V* fassen. Der Druck des Gases in *V* steigt vermöge dieser Einrichtung beim Glühen nur um etwa 15 cm Wasser. Wir hatten anfänglich das Entweichen von Gas aus *V* durch Absperren von *D* verhindert, hierbei aber gelang es nicht, die Schliffe derart zu sichern, daß sie den Überdruck zuverlässig aushielten, so daß häufig Gasverluste eintraten. Nach etwa 20 Sekunden Glühens unterbricht man den Strom so lange, bis das Gas der Hauptmasse nach wieder in *V* zurückgekehrt ist, was in 10 bis 15 Sekunden geschieht. Dann glüht man abermals 20 Sekunden lang und wiederholt dieses Spiel etwa 20 mal. Nun wird genau wie anfangs der Temperaturausgleich abgewartet und abgelesen, nachdem man durch Benetzung der Wand mit der Kalilauge für vollkommene Absorption der Kohlensäure gesorgt hat. Hierauf wird durch Wiederholung des Glühens kontrolliert, ob die Verbrennung vollendet war, was meist der Fall ist. Man kann sehr wohl 2 bis 3 Verbrennungen gleichzeitig ausführen, indem man die Platinspiralen hintereinander in denselben Stromkreis schaltet. Notwendig ist es auch das Thermobarometer genau wie die eigentlichen Verbrennungsgefäße einzurichten und mit diesen zu erhitzen, um alle Bedingungen möglichst gleichmäßig zu haben.

Es verbrennt nämlich regelmäßig beim Glühen ein wenig Stickstoff der Luft, wie wir durch das Auftreten von Salpetersäure in der Kalilauge nach längerem Gebrauch nachweisen konnten. Die Größe dieses Fehlers ist in den verschiedenen Apparaten gleich, wenn die Glühspiralen gleich lang und aus gleichem Draht gefertigt sind und die Verbrennungsgefäße annähernd gleichen Inhalt haben. Man muß sich,

ehe man die Gefäße in Benutzung nimmt, überzeugen, daß ihre Manometer nach längerem Glühen parallel gehen.

Erhebliche Fehler können entstehen, wenn die Luft des Zimmers brennbare Gase (Leuchtgas) enthält. Es empfiehlt sich deshalb, sowohl die Füllung der Entwicklungspipette *P* wie auch den Druckausgleich in *V* am offenen Fenster vorzunehmen oder besser in der S. 54 beschriebenen Weise CO_2-freie Außenluft zu benutzen. Nach dem Druckausgleich ist die etwa in *V* und im Thermobarometer noch vorhandene Luftkohlensäure durch leises Schütteln des Gefäßes zur Absorption zu bringen.

Zur Berechnung der Resultate ist es notwendig den Rauminhalt des Verbrennungsgefäßes einschließlich der Glasröhren bis zum 0-Punkt des Manometerschenkels *M* zu kennen. Durch Wasserwägung läßt sich die Kalibrierung mit mehr als nötiger Genauigkeit ausführen.

Bei der Verbrennung verbinden sich zwei Volumina CO mit einem Volum Sauerstoff zu CO_2, welche absorbiert wird. Die Abnahme des Gases ist also mit $^2/_3$ zu multiplizieren, um das CO zu finden. Da durch die Einstellung des Manometers dafür gesorgt ist, daß der dem Gase zur Verfügung stehende Raum konstant bleibt, prägt sich die Änderung der Gasmenge ausschließlich im Druck aus. Die unvermeidlichen Änderungen der Temperatur und des äußeren Luftdruckes wirken auf die Manometer des Verbrennungsapparates und des Thermobarometers in gleichem Maße. Man braucht daher nur die Druckänderung des Thermobarometers von der des Manometers abzuziehen, um die durch die Verbrennung bewirkte Druckänderung zu finden. Betrage nun diese Druckänderung a mm, das Kaliber des Verbrennungsgefäßes mit Einschluß des angrenzenden lufthaltigen Manometerschenkels bis zum Nullpunkt v ccm, die Anfangstemperatur gemessen im Wasser der Wanne t°, so ist das auf 0° 760 mm Hg Druck und Trockenheit reduzierte Volum des Kohlenoxyds gleich:

$$\frac{2\,v\,.\,a}{3 \times 760 \times 13{,}65 \times (1 + 0{,}0367\ t)}$$

oder vereinfacht

$$\frac{v\,.\,a}{15561\,(1 + 0{,}0367\ t)}.$$

Zur Erleichterung der Rechnung geben wir in der folgenden

Tabelle den Wert von $\frac{1}{15561\,(1+0{,}0367\,t)}$ für die praktisch wichtigen Temperaturen zwischen 12 und 22°. Die Zahlen lauten:

Temp. °C	Numerus	Logarithmus	Differenz für 1°
12	0,0000616	5,78927 — 10	
			152
13	0,0000613	5,78775	
			152
14	0,0000611	5,78623	
			151
15	0,0000609	5,78472	
			151
16	0,0000607	5,78321	
			150
17	0,0000605	5,78171	
			150
18	0,0000603	5,78021	
			149
19	0,0000601	5,77872	
			149
20	0,0000599	5,77723	
			148
21	0,0000597	5,77575	
			148
22	0,0000595	5,77427	

Als Beispiel geben wir die Kohlenoxydberechnung in einem gesättigten Pferdeblut: Kaliber des Verbrennungsgefäßes a = 37,54 ccm; Temperatur im Moment der Absperrung des Manometers und Thermobarometers = 14,2° C.

Anfangsablesung am Thermobarometer . . . . + 3,0 mm
am Verbrennungsapparat . . . . + 4,8 „

nach 10maligem Glühen:
am Thermobarometer . . . . + 35,2 „
am Verbrennungsapparat . . . . — 29,6 „

nach abermals 10maligem Glühen:
am Thermobarometer . . . . + 46,1 „
am Verbrennungsapparat . . . . — 21,8 „

nach abermals 10maligem Glühen:
am Thermobarometer . . . . + 49,2 „
am Verbrennungsapparat . . . . — 18,6 „

Die durch die Verbrennung bewirkten Druckänderungen sind demnach:

Nach dem ersten Glühen: 29,6 + 4,8 + (35,2 — 3,0) = 66,6 mm
„ „ zweiten „ 21,8 + 4,8 + (46,1 — 3,0) = 69,7 „
„ „ dritten „ 18,6 + 4,8 + (49,2 — 3,0) = 69,6 „

Es war also nach dem zweiten Glühen die Verbrennung vollendet. Durch Einsetzen der Zahlenwerte in die Formel haben wir

$$\frac{37{,}54 \times 69{,}65}{0{,}0000611}$$

$$\log 37{,}54 = 1{,}57449$$
$$\log 69{,}65 = 1{,}84292$$

$$\log \frac{1}{0{,}0000611} \text{ (s. Tabelle korrigiert für } 0{,}2^0) = 5{,}78593 - 10$$

$$9{,}20334 - 10$$

num. log 9,20334 = 0,160 ccm CO in 1 ccm Blut, d. h. 16,0 Vol.-$^0/_0$.

In diesem Falle war die Sättigung des Blutes mit Leuchtgas ausgeführt worden, was bei colorimetrischen Bestimmungen unbedenklich, hier aber wegen der anderen aus dem Leuchtgas absorbierten brennbaren Gase durchaus unzulässig ist, wie der Vergleich mit zwei anderen Proben desselben Blutes, die mit reinem CO gesättigt worden, zeigt. Diese Proben ergaben:

14,07$^0/_0$ CO,
13,80$^0/_0$ CO.

Bei der Berechnung des im Körper vorhandenen Blutvolums aus den Daten des Versuchs ist zu berücksichtigen, daß von dem zugeführten Kohlenoxyd ein Rest in der Luft der Lungen und des Respirationskreises bleibt.

Dieser Rest ist aber sehr gering. Wenn das Hämoglobin des Blutes zu $^1/_4$ bis $^1/_3$ mit CO gesättigt ist, wie es in unseren Versuchen der Fall ist, entspricht die Tension dieses Gases nach Gréhant und Haldane einem Gehalt von 0,05$^0/_0$ in der Atemluft.

Da der Luftvorrat in den Lungen und dem Atemkreis bei Versuchen am Menschen etwa 5 l beträgt, haben wir mit einem Rückstand von $\frac{5000 \cdot 0{,}05}{100} = 2{,}5$ ccm CO zu rechnen.

Einige von uns in der Luft des Atemsackes ausgeführte CO-Bestimmungen ergaben nur wenig von diesem theoretischen

Werte abweichende Zahlen. Nur dann wird man auf etwas höheren Gehalt zu rechnen haben, wenn ein sehr sauerstoffreiches Gasgemisch zur Atmung benutzt wird, indem man die Lunge zu Beginn des Versuchs mit Sauerstoff auswäscht, was wir aber nicht empfehlen möchten.

Zur Analyse des Kohlenoxydgehaltes der Atemluft, sowie überhaupt zur Bestimmung geringer Mengen brennbarer Gase in sauerstoffhaltigen Gemischen, kann auch der in Fig. 2 abgebildete Apparat dienen. Man evakuiert V mit Hilfe einer Wasserstrahlpumpe und läßt dann das von Kohlensäure befreite zu untersuchende Gas in das Vakuum eintreten. Zweckmäßig wiederholt man die Evakuierung und Füllung ein zweitesmal, um die letzten Reste Luft zu entfernen. Dann vollzieht sich die Analyse genau wie beim Blutgas.

Der Prozentgehalt des Gases an CO ergibt sich hier aus dem Ausschlag des Wassermanometers $= b$ mm und dem auf 0^0 und Trockenheit reduzierten Barometerstande p als gleich $\frac{100 \times {}^2/_3\, b}{p \times 13{,}56}$ oder unter Zusammenfassung der Zahlen:

$$\frac{4{,}916 \times b}{p}$$

Geringe Mengen CO werden auch von den Körperflüssigkeiten absorbiert. Wenn wir, um den höchsten Wert des so zu begehenden Fehlers zu ermitteln, annehmen, die ganze Masse des Körpers habe dasselbe Absorptionsvermögen für CO wie Wasser (Absorptionskoeffizient $= 0{,}0184$ bei 37^0 C), so würden bei 70 kg Körpergewicht 0,64 ccm CO aus einer Atmosphäre mit $0{,}05\,^0/_0$ dieses Gases absorbiert werden.

Man wird daher in Versuchen am Menschen von dem zugeführten CO 3 ccm als nicht ins Blut aufgenommen abziehen müssen. Etwas CO dürfte auch das außerhalb der Blutbahn als Bestandteil der Muskeln vorhandene Hämoglobin absorbieren. Wir können den hierdurch bedingten Fehler wohl kaum auf mehr als $1\,^0/_0$ des Bluthämoglobins veranschlagen. Daß der Muskelfarbstoff bei Kohlenoxydvergiftung in der Tat sich mit dem Gase verbindet, das hat vor Jahren Falk[1]) im hiesigen Laboratorium nachgewiesen; er hat auch gezeigt, das das

[1]) Falk, F., Über postmortale Blutveränderungen. Vierteljahrsschr. f. ger. Med. **52**, 215.

Muskelhämoglobin sich langsamer als das des zirkulierenden Blutes mit CO verbindet, dafür aber auch noch zu einer Zeit, wo das Blut schon frei von CO ist, deutlich die Spectralerscheinungen des Kohlenoxydhämoglobins gibt.

Nicht unerhebliche Fehler können entstehen, wenn das Versuchsindividuum in den letzten Stunden vor dem Versuch sich in einer durch Leuchtgas verunreinigten Luft aufgehalten oder stark geraucht hat, wodurch die fast stets im Blute vorhandenen Spuren von Kohlenoxyd beträchtlich anwachsen können.

Die mit der beschriebenen Methode gefundenen Zahlen für die Blutmenge von Menschen und Tieren wird der eine von uns (Plesch) in einiger Zeit veröffentlichen.

Nur als Beispiel geben wir folgende Bestimmung an einem gesunden jungen Manne von 65 kg Gewicht.

In $6^1/_2$ Minuten zugeführt 183,2 cc Kohlenoxyd bei 17,7° C und 756 mm Barometerstand = 167,2 cc CO bei 0° u. 760 mm. Dann wurde noch 9 Minuten geatmet, ehe die Blutprobe aus der Armvene entnommen wurde.

Die Kontraktion bei der Verbrennung entsprach in 3 Analysen:

a	20,2 mm,
b	19,9 mm,
c	20,2 mm.
Mittel . . .	20,1 mm.

Das Gefäß *V* maß 37,54 cc.

Die verwendete Blutmenge war jedesmal 0,960 cc, die Temperatur 18,1° C in allen 3 Analysen, daher nach der Formel S. 56,

Prozentgehalt des Blutes = 4,737.

Die Kohlenoxydbestimmung der Atemluft ergab 0,027 %. Das Volum der Atemwege betrug ca. 4 l, demnach unabsorbiert 1,08 cc, in den Körpersäften ca. 0,3 cc, also an Hämoglobin gebunden 165,8 cc CO. Die Blutmenge ist daher $\frac{165,8 \times 100}{4,737} = 3500$ cc $= 5,385\,\% = {}^1/_{18,6}$ des Körpergewichts.

Über Milchzucker zerstörende Enzyme in der Milch.

Von

Prof. Dr. A. J. J. Vandevelde, Gent.

Im Laufe meiner Untersuchungen[1]) über Enzyme in der Kuhmilch habe ich feststellen können, daß der Milchzucker verändert wird. In Milchproben, welche roh mit Jodoformaceton nach meiner früher beschriebenen Methode[2]) bei 37,5° C aufbewahrt wurden, konnte ich eine erhebliche Verminderung des Rotationsgrades konstatieren, wie folgende Werte zeigen; diese Werte sind die Saccharimetergrade des Laurentschen Polarimeters, wenn die Filtrate von 20 ccm Milch und 20 ccm einer 10%igen Bleizuckerauflösung[3]) in einem Rohre von 20 cm beobachtet wurden.

Milchart	Frische Milch 14. 2. 1906	Aufbewahrte Milch	
		18. 3. 1906	3. 4. 1906
V 216	11,9	11,0	9,3
V 217	11,4	9,7	6,8
V 218	10,5	8,3	4,9
V 219	11,3	5,6	3,6
V 220	11,8	10,8	8,1
V 221	9,6	6,8	4,7
V 222	9,8	7,0	4,6
V 223	12,3	9,9	8,7

Daraus läßt sich schließen, daß der Milchzucker eine Umsetzung erleidet, welche nicht mit der gewöhnlichen d-Glucose

---

[1]) A. J. J. Vandevelde. Nouvelles recherches sur les ferments solubles du lait. Memoire couronné Acad. sciences Belgique, **1907**, 85 S.

[2]) A. J. J. Vandevelde. Über die Anwendung von Antisepticis bei Untersuchungen über Enzyme. Diese Zeitschr. **3**, 315 bis 319, 1907.

[3]) Chemisch Jaarboekje voor Nederland, België en Nederlandsch Indië, Amsterdam **1903**, 105.

= d-Galactose-Inversion übereinstimmt, da diese Zuckerarten die folgenden spezifischen Rotationswerte zeigen:

Milchzucker $[\alpha]_D = + 52{,}53$
d-Glucose $[\alpha]_D = + 51{,}78$
d-Galactose $[\alpha]_D = + 80{,}27$.

Um diese Umsetzungserscheinungen näher zu untersuchen, habe ich eine neue Reihe Proben mit der Kuhmilch V 241 vorgenommen. Die Milch wurde auf drei Weisen aufbewahrt: 1. nach Sterilisieren durch Kochen, 2. mit 40%iger Formolauflösung (3 ccm pro Liter Milch), und auch 3. mit 4%igem Jodoformaceton (100 ccm pro Liter Milch). Die Proben wurden in Druckflaschen gebracht und in Brutschränken auf 37,5° C aufbewahrt. Jede Woche wurden die Flaschen zur Homogenisierung der eingehaltenen Flüssigkeiten gut umgeschüttelt.

Die Milch V 241 hatte im frischen Zustande am 20. 12. 1906 die folgende Zusammensetzung und Eigenschaften:

Extrakt	13,15 GV%
Asche	0,70 GV%
Proteine	2,51 GV%
Milchzucker (durch Polarisation)	4,88 GV%
Milchzucker (nach der Fehlingschen Methode)	4,77 GV%
Fett	4,93 GV%
Säuregrad in 100 ccm	27 ccm $^n/_{10}$
Schmelzpunkt des Lactosephenylosazons, bereitet aus dieser Milch	201° C.

Mit dieser aufbewahrten Milch wurden die Rotation, die Reduktionskraft, die Osazonbildung und der Säuregrad untersucht.

1. Rotation.

Je 20 ccm Milch wurden mit 20 ccm einer 10%igen Bleizuckerauflösung versetzt, und die Saccharimetergrade mit dem Filtrate in dem 20 cm langen Rohr des Laurentschen Polarimeters bestimmt. Die übereinstimmenden Milchzuckermengen sind für 100 ccm Milch nach der Tabelle des „Chemisch Jaarboekje"[1]) berechnet. Mit der Jodoformmilch wurde die Volumkorrektion berechnet (110 Mischung = 100 Milch).

[1]) Op. cit.

Am 20. 12. 1906, anfangs:

Frische Milch . .	11,8° S.	mit	4,88%	Milchzucker übereinstimmend.

Am 16. 1. 1907, nach 27 Tagen:

Gekochte Milch . .	11,4° S.	mit	4,63%	Milchzucker übereinstimmend
Formolmilch . . .	11,4° S.	„	4,63%	„ „
Jodoformacetonmilch	9,8° S.	„	4,06%	„ „

Am 25. 5. 1907, nach 155 Tagen:

Gekochte Milch . .	11,5° S.	mit	4,76%	Milchzucker übereinstimmend
Formolmilch . . .	11,4° S.	„	4,63%	„ „
Jodoformacetonmilch	5,4° S.	„	2,22%	„ „

Am 20. 3. 1908, nach 429 Tagen:

Gekochte Milch . .	10,9° S.	mit	4,50%	Milchzucker übereinstimmend
Formolmilch . . .	10,4° S.	„	4,31%	„ „
Jodoformacetonmilch	4,5° S.	„	1,86%	„ „

Wie die bakteriologische Untersuchung zeigte, waren die Proben ganz bakterienfrei; auch enthielten die Flaschen keine Gase unter Druck. In der gekochten und in der Formolmilch fand ich allein eine geringe Verminderung der Rotation, stark ausgesprochen dagegen in der rohen Jodoformacetonmilch. Daraus läßt sich dieselbe Schlußfolgerung ziehen als aus den vorläufigen Untersuchungen.

2. Reduktionskraft.

Die Reduktion mit der Fehlingschen Auflösung wurde wie folgt ausgeführt: in einem Meßkolben von 100 ccm wurden 10 ccm Milch mit 10 ccm des 10%igen Bleizuckers versetzt; nach einer Stunde wurden zu dieser Mischung 10 ccm einer gesättigten Natriumsulfatauflösung zugesetzt und das ganze Volum mit Wasser auf 100 ccm gebracht; 50 ccm des Filtrates wurden mit 50 ccm kochender Fehlingscher Lösung vermischt, und das niedergeschlagene Kupferoxydul in Oxyd übergeführt. Bei der Jodoformmilch wurde die Korrektion 110 Mischung = 100 Milch gemacht. Die gefundenen Kupfermengen sind auf Milchzucker umgerechnet.

Am 20. 12. 1906, anfangs:

Frische Milch . .	4,768 g	berechneter Milchzucker in 100 ccm,

Am 16. 1. 1907, nach 27 Tagen:

Gekochte Milch . .	4,695 g	berechneter Milchzucker in 100 ccm,
Formolmilch . . .	4,609 g	„ „ „ 100 „
Jodoformacetonmilch	4,479 g	„ „ „ 100 „

Am 25. 5. 1907, nach 155 Tagen:

Gekochte Milch . .	4,653 g	berechneter Milchzucker	in 100 ccm,
Formolmilch . . .	4,525 g	„ „	„ 100 „
Jodoformacetonmilch	4,273 g	„ „	„ 100 „

Am 20. 3. 1908, nach 429 Tagen:

Gekochte Milch . .	4,455 g	berechneter Milchzucker	in 100 ccm,
Formolmilch . . .	4,588 g	„ „	„ 100 „
Jodoformacetonmilch	4,351 g	„ „	„ 100 „

Wenn folglich einerseits der Milchzucker eine Umsetzung erleidet, wodurch die Polarisation vermindert wird, wurde andererseits festgestellt, daß die Reduktionskraft nahezu dieselbe bleibt. Im Falle einer normalen Inversion des Milchzuckers in d-Glucose und d-Galactose müßte auch die Reduktionskraft erhöht werden, da 0,1 gr Kupfer wird reduziert von:

0,0722 g Milchzucker
oder 0,0529 g invertiertem Milchzucker
oder 0,0549 g d-Glucose
oder 0,0530 g d-Galactose.

Die gefundenen Werte weisen eine geringe Verminderung der Reduktion auf und stimmen mit den Ergebnissen der Rotation überein, welche eine andere Umsetzung als die Inversion zu d-Glucose und d-Galactose anzeigt.

3. Osazonbereitung.

Das Milchzuckerphenylosazon wurde aus 250 ccm Milch bereitet, welche mit einer Auflösung von 16 g neutralem Bleiacetat in 50 ccm Wasser versetzt waren. Nach einer Stunde wurde die Mischung mit 100 ccm einer gesättigten Natriumsulfatauflösung durchgeschüttelt und filtriert. Das Filtrat wurde mit 25 g salzsaurem Phenylhydrazin und 25 g Natriumacetat eine Stunde lang gekocht, unter Innehaltung einer konstanten Wassermenge. Die Flüssigkeit wurde warm filtriert und die Krystalle durch Auflösen in heißem Wasser gereinigt.

Aus der seit 27 Tagen aufbewahrten Milch wurden Osazonkrystalle erhalten, welche einen Schmelzpunkt von 197° C, 198° C und 196° C zeigten für die gekochte, die Formol- und die Jodoformacetonmilch. Nach 155 Tagen zeigte die Milch noch dieselben Werte: 196° C, 197° C und 196° C; da aber die Menge der Krystalle aus der Jodoformacetonmilch bedeutend vermindert

gefunden wurde, wurden die Gewichte dieser für die drei Milchproben unter denselben Bedingungen erhaltenen Krystalle bestimmt. Ich fand 1,68 g, 1,41 g und 0,63 g Milchzuckerphenylosazon für die gekochte, die Formol- und die Jodoformacetonmilch.

Nach 429 Tagen wurden mit der Jodoformketonmilch keine Ozazonkrystalle mehr erhalten; mit der gekochten Milch konnte ich 1,45 g Krystalle mit einem Schmelzpunkt von 198° C und mit der Formolmilch 1,29 g Krystalle mit einem Schmelzpunkt von 199° C bereiten.

Damit wird bewiesen, daß der Milchzucker in der Jodoformketonmilch allmählich umgesetzt wird, und daß diese Umsetzung sehr wenig oder gar nicht in gekochter und in Formolmilch stattfindet. Auch hier wird der Milchzucker nicht in d-Glucose und d-Galactose gespalten, da bei diesen beiden Zuckern die Phenylosazone ähnliche Eigenschaften als das Lactosephenylosazon besitzen; es schmilzt das d-Glucosephenylosazon bei 205 bis 208° C, und das d-Galactosephenylosazon bei 193 bis 194° C.

4. Säuregrad.

Durch die bakteriologische Untersuchung wurde die völlige Abwesenheit der Bakterien festgestellt, welche den Säuregrad verändern könnten. Auch wurde keine spontane Säurebildung nachgewiesen. Mit $^n/_{10}$-Natron und Phenolphthalein wurden in der frischen Milch 27 ccm $^n/_{10}$ pro 100 ccm gefunden. Nach 155 und 429 Tagen konnte ich die folgenden Werte bestimmen:

	Nach 155 Tagen	Nach 429 Tagen
Gekochte Milch . . .	28,0	43,0
Formolmilch	33,0	37,0
Jodoformacetonmilch .	27,1	39,0

Aus diesen Ergebnissen läßt sich demnach nicht ableiten, daß gebildete Säuren einen Einfluß auf die Zersetzung des Milchzuckers ausüben.

Durch meine Untersuchungen wird festgestellt, daß der Milchzucker in der rohen Kuhmilch zersetzt wird. Da diese Zersetzung in der gekochten Milch nicht, und in der Formolmilch wenig stattfindet, so ist die Anwesenheit von Milch-

zucker zerstörenden Enzyme in der Kuhmilch bewiesen. Die Wirkung dieser Enzyme besteht in keiner gewöhnlichen Inversion zu d-Glucose und d-Galactose, wohl aber in einer zu Umsetzung reduzierenden Verbindungen, welche ich allein nach neuen und langdauernden Untersuchungen bestimmen zu können hoffe.

Mit der Kuhmilch V 129 vom 17. 10. 1904, welche nach meiner mit De Waele und Sugg angegebenen Methode[1]) mit Perhydrol und Katalase aufbewahrt wurde und nach mehr als 3 Jahren in ganz sterilem Zustande geblieben war, habe ich eine Kontrolle vorgenommen. Am 20. 3. 1908, nach 3 Jahren und 153 Tagen fand ich:

Extrakt in 100 ccm	10,79 g
Asche in 100 ccm	0,57 g
Säuregrad in 100 ccm	28 ccm $^{n}/_{10}$
Milchzucker, durch Reduktion bestimmt, in 100 ccm	3,818 g
Polarisation	0.

Am 17. 10. 1904 waren die folgenden Daten gefunden:

Extrakt in 100 ccm	10,84 g
Asche in 100 ccm	0,56 g
Milchzucker (Polarisationsmethode) in 100 ccm	4,18 g

Diese Untersuchung beweist wie die oben beschriebene, daß der Milchzucker in der rohen Milch zu auf die Polarisation wirkenden Verbindungen umgesetzt wird und daß diese Umwandlung weder von einer Bildung flüchtiger Substanzen noch von einer Erhöhung der Säuremengen begleitet ist.

[1]) H. De Waele, E. Sugg und A. J. J. Vandevelde. Sur l'obtention de lait cru sterile. Centralbl. f. Bakt., 2. Abt, **13**, 30 bis 35, 1904. — Dieselben, Ein Verfahren zur Gewinnung einer von lebenden Tuberkelbacillen und anderen lebensfähigen Keimen freien, in ihren gemeinsamen Eigenschaften im wesentlichen unveränderten Kuhmilch. Beiträge z. klin. Tuberkulose **6**, 291 bis 293. 1907.

Erregung und Beeinflussung katalytischer Pulsationen durch elektrische Ströme.

Von

G. Bredig und E. Wilke.

Mit 2 Figuren im Text und 3 Tafeln.

(Aus dem Chem. Universitätslaboratorium in Heidelberg.)

1. Einleitung.

Seit Thénards klassischen Untersuchungen[1]) wissen wir, daß der Zerfall des Wasserstoffsuperoxyds in Wasser und Sauerstoffgas durch metallisches Quecksilber heftig katalysiert wird. Vor einigen Jahren hat nun der eine von uns in Gemeinschaft mit J. Weinmayr[2]) festgestellt, daß die Geschwindigkeit dieser Reaktion unter gewissen Umständen eine rhythmisch pulsierende wird, eine Erscheinung, die bis vor kurzem in der Chemie ziemlich selten und deren Studium erst einige Zeit vorher durch die bekannten Versuche von W. Ostwald[3]) am Chrommetall wieder angeregt worden war. Der von Bredig und Weinmayr aufgefundene Fall ist aber bisher wohl der einzige, wo eine Katalyse der Hauptvorgang ist. Auch läßt er sich stets leicht reproduzieren, so daß er sich sehr gut sogar zur Demonstration eignet.

Auch für den physikalisch-chemisch denkenden Physiologen ist vielleicht eine Untersuchung dieser pulsierenden Reaktion nicht ohne Interesse.[4]) Betrachten wir

---

[1]) Mém. de l'Académie des Sciences 3, 385, 1818.

[2]) G. Bredig und J. Weinmayr, Zeitschr. f. physikal. Chem. 42, 601, 1903. — Verhandl. d. Naturhist. med. Vereins Heidelberg 7, 405, 1904.

[3]) W. Ostwald, Zeitschr. f. physikal. Chem. 35, 33 u. 203, 1900. — E. Brauer, ebenda, 38, 441, 1901. — A. Thiel und A. Windelschmidt, Zeitschr. f. Elektrochem. 13, 317, 1907.

[4]) Vgl. H. J. Hamburger, Osmotischer Druck und Ionenlehre 3, 107. R. Hoeber, Physikalische Chemie der Zelle und der Gewebe, 2. Aufl., S. 418.

den ruhenden Muskel als ein Gebilde, in welchem unter dem katalytischen Einflusse der Enzyme und Kofermente ein stationäres bezw. „dynamisches" Verhältnis zwischen chemischen Assimilations- und Dissimilationsvorgängen herrscht, welches bei Reizung im einen oder anderen Sinne Störungen erfährt, betrachten wir ebenso die Pulsationen des Herzmuskels als hervorgehend aus pulsierenden chemischen Vorgängen des Organismus, so dürfte die Behandlung der Frage, wie aus gewöhnlichen chemischen Reaktionen und besonders bei Katalysen Pulsationen entstehen, wie solche gereizt und gelähmt werden und wie man sie zu pulsierender Arbeitsleistung verwenden kann, doch auch in dieser Zeitschrift nicht ausgeschlossen bleiben, selbst wenn es sich vorderhand nicht um organisierte oder kohlenstoffhaltige Systeme handelt.

Die pulsierende Katalyse des Wasserstoffsuperoxyds nach der Bruttoreaktion: $H_2O_2 = H_2O + {}^1/_2 O_2$ ist bereits ziemlich ausführlich von dem einen von uns in Gemeinschaft mit E. Wilke[1]) und A. von Antropoff[2]) untersucht worden. Über die Ergebnisse dieser Untersuchungen ist schon in dieser Zeitschrift[3]) unlängst kurz im Auszuge berichtet worden. Hervorzuheben war die „Reizbarkeit" der Pulsationen durch Spuren von Alkali und Säure, die Zunahme ihrer Frequenz mit der Temperatur, die gleichzeitige spontane Pulsation des elektrischen Potentials und der Oberflächenspannung, die Lähmung durch geringe Zusätze gewisser Stoffe, die Zurückführung der Erscheinung auf die alternierende Bildung und „Dissimilation" einer intermediären, sehr instabilen sauerstoffhaltigen Zwischenverbindung usw., also lauter Erscheinungen, die wenigstens in manchen Zügen an die Muskeltätigkeit und ihre Erklärungsversuche erinnern.[4])

---

[1]) G. Bredig u. E. Wilke, Verhandl. d. Naturhist. med. Vereins Heidelberg 8, 165, 1905. — E. Wilke, Period. Erscheinungen bei der Quecksilberkatalyse des Wasserstoffsuperoxyds. Diss., Heidelberg 1904.

[2]) A. von Antropoff, Zeitschr. f. physikal. Chem. 62, 513, 1908. — Journ. f. prakt. Chem. 77, 273, 1908.

[3]) Diese Zeitschr. 6, 322 bis 326, 1907.

[4]) Vgl. z. B. Max Verworn, Physiol. Praktikum 1907, 140, 153 bis 155, 176 bis 177, 191 bis 193. — M. v. Frey, Vorlesungen über Physiologie 1904, S. 72 bis 73, 237, 260. — L. Luciani, Physiol. d. Menschen 3, 104, 273 u. f. 1907. — F. Bottazzi, Principii di Fisiol. 1,

Ein besonderes Interesse verdient vielleicht die von uns festgestellte Tatsache, daß diesem physikalisch-chemischen Systeme eine gewisse „Reizbarkeit“ durch mechanische oder chemische oder elektrische „Reize“ eigentümlich ist, durch welche die Pulsation des katalytisch-chemischen Vorganges entweder erzeugt oder, wenn sie bereits spontan vorhanden ist, stark beeinflußt werden kann.

In der vorliegenden Mitteilung wollen wir nun über einige Versuche berichten, welche speziell die Wirkung elektrischer Ströme zur Erregung oder Beeinflussung dieses katalytischen Pulsationsvorganges betreffen.

2. Die Grunderscheinung.

E. Wilke beschreibt bereits in seiner Dissertation (l. c. S. 46 bis 47) folgende Erscheinung:

Wenn eine mit Wasserstoffsuperoxyd überschichtete und durch diesen Angriff bald mit einem gelben bis braunen Häutchen überzogene Quecksilberoberfläche kathodisch polarisiert wird, dann sieht man, wie das Häutchen sehr rasch weggefressen wird und an Stelle dessen die blanke Quecksilberoberfläche erscheint.

Macht man das Quecksilber dagegen zur Anode, so entsteht fast momentan ein dicker Überzug auf demselben. Nun konnte man durch geeigneten Zusatz von Alkalien oder Säuren die Konzentration des OH′-Ions so einstellen, daß man erst mit einer bestimmten Stromdichte die in früheren Mitteilungen bereits besprochenen, bei andern OH′-Konzentrationen auch ohne Strom bereits spontan auftretenden katalytischen Pulsationen erhielt. In beiden Fällen, einmal, wenn das Quecksilber Kathode, das andere Mal, wenn es Anode war, erhielt E. Wilke diese Pulsationen, doch mußte bei letzterer Versuchsanordnung die Alkalikonzentration eine bedeutend größere sein; sie schien überhaupt

461, 1906). — R. Tigerstedt, Lehrb. d. Physiol. 1907. 1, 62 bis 64, 231 ff., — W. Biedermann, Elektrophysiologie 1895, S. 71 u. 82 u. a. a. O. — J. Loeb, Vorlesungen über Dynamik d. Lebenserscheinungen, S. 117 ff. — A. Kanitz, Biol. Centralbl. 27, 11, 1907. — C. Richet, Dict. de physiol. 4, 316. — H. Boruttau in Koranyi-Richters Physikal. Chem. u. Med. 1907, 420. — H. Boruttau, Elektrizität in der Medizin und Physiologie 1906, S. 91, 116. — W. Ostwald, Naturphilosophie, S. 273, 363.

von der Stromdichte bestimmt zu werden. Wenn der Strom wieder unterbrochen wurde, hörten die Pulsationen momentan auf und die Katalyse verlief dann nur noch stetig.

Von diesem Phänomen angeregt, haben wir uns nun die Frage gestellt, wie die katalytische Pulsation von den verschiedenen Stromarten (Gleichstrom, intermittierendem Gleichstrom, Wechselstrom, erzeugt durch rasche Kommutierung eines Gleichstroms, Wechselstrom einer sekundären Induktoriumspule etc.) erregt oder beeinflußt werden kann.

In der ersten Gruppe (Kap. 4) unserer Versuche war das System Quecksilber + H_2O_2-Lösung (durch vorsichtige Regulierung der vorhandenen Spuren OH′-Ion) so eingestellt, daß es zwar katalytische O_2-Entwicklung, jedoch keine spontanen Pulsationen gab, sich aber im sogenannten „schwingungsfähigen“ Zustande befand, d. h. daß auf einen mechanischen Stoß oder infolge eines elektrischen Stromstoßes Pulsationen der katalytischen Sauerstoffentwicklung und der gleichzeitig intermittierenden Hautbildung auftraten. Diese Pulsationen wurden gerade so wie in unseren früheren Mitteilungen (l. c.) nach Ostwalds Vorgang mit einem selbstverfertigten Kymographion und mit Hürthle-Gadscher Schreibkapsel registriert, indem das mit pulsierender Reaktionsgeschwindigkeit am Quecksilber aus der H_2O_2-Lösung katalytisch entwickelte O_2-Gas durch eine Capillare aus dem Reaktionsgefäß entwich, während der gleichzeitig mit der Reaktionsgeschwindigkeit pulsierende Gasdruck im Innern dieses Gefäßes auf die obige Schreibkapsel übertragen wurde. Ein wenn auch vielleicht in manchen Punkten noch sehr gewagter Vergleich mit einem zuckungsfähigen Muskel wird sich hier jedem Beobachter unwillkürlich aufdrängen.[1])

In der zweiten Gruppe (Kap. 5) unserer Versuche wurde das System Quecksilber + H_2O_2-Lösung so eingestellt, daß es bereits spontan die von uns früher beschriebenen, gewöhnlichen rhythmischen Pulsationen der katalytischen Sauerstoffgas-Entwicklung zeigte, und wurde nun zur Elektrode einer

[1]) Vgl. hiermit die interessanten Beobachtungen über „elektrische Pseudoirritabilität toter Substanzen“ von B. Danilewsky, Arch. f. Anat. u. Physiol., Physiol. Abt. 1906, 413.

der obigen Stromarten gemacht. Gegen diese Behandlung zeigten sich die Pulsationsformen außerordentlich empfindlich. Auch hier liegen vielleicht physiologische Analogien nahe.

3. Versuchsanordnung.

Für unsere Versuche benutzten wir wie gewöhnlich eine reine wässerige 10 %ige Lösung von Wasserstoffsuperoxyd, wie man sie direkt aus 1 Vol. Merckschem „Perhydrol" und 2 Vol. Wasser erhält. Eine solche Lösung, auf gut gereinigtes Quecksilber geschichtet, gibt bei Zimmertemperatur meist bald entweder ein spontan pulsierendes oder ein „schwingungsfähiges" System. Je nach Bedarf kann man aber immer nach einigem Probieren[1]) und unter ev. Zusatz einiger Tropfen verd. Natriumacetats oder verd. Essigsäure oder verd. Alkalis bald das eine, bald das andere der gewünschten Systeme erhalten.

Das Quecksilber (Fig. 1) mit einer kreisförmigen Oberfläche von stets 35 mm Durchmesser befand sich am Boden des „Pulsgefäßes" *A* und konnte als Elektrode durch einen eingeschmolzenen Platindraht mit der einen Stromzuführung *a* elektrisch leitend verbunden werden. Durch einen seitlichen Schlifftubus ragte die andere Elektrode *b* in Form eines etwa 1 mm dicken Platindrahtes in das Gefäß *A* hinein, welches möglichst vollständig bis zur Höhe *c* mit ca. 50 ccm der H_2O_2-Lösung gefüllt wurde. Das am Boden an der Grenzfläche von H_2O_2-Lösung und Quecksilber katalytisch und ev. mit rhythmisch pulsierendem Tempo entwickelte Sauerstoffgas entwich durch den oberen seitlichen Schlifftubus[2]) mit

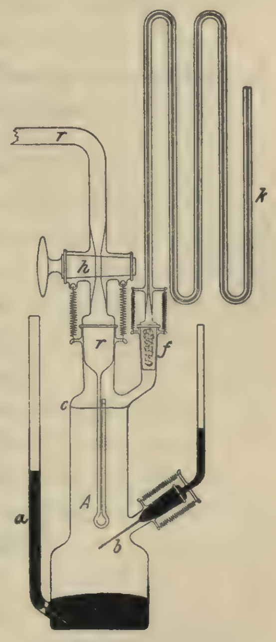


Fig. 1
1/3 nat. Größe.

[1]) Eine quantitative Definition und Bestimmung der sehr geringen, jeweils nötigen OH-Ionenmenge stößt zurzeit noch auf erhebliche Schwierigkeiten.

[2]) Alle Schliffe werden mit Spiralfedern druckdicht festgehalten.

dem kleinen Wattefilter *f* und die Capillare *k* und übertrug seinen ev. rhythmisch pulsierenden Druck auf die Wassersäule, welche aus dem Innern des Gefäßes durch die mit Wasser gefüllten Verbindungsröhren *r*—*r* und den Hahn *h* zu einer Hürthle-Gadschen Schreibkapsel führte. Diese registrierte also dann über der geraden, horizontalen Nullinie die Pulsationen der Katalyse in der bei den Physiologen üblichen Weise auf eine rotierende, berußte Trommel, während gleichzeitig ein Sekundenpendel mit einem Elektromagneten alle Sekunden Zeitmarken darunter zeichnete, die in allen unseren stets von links nach rechts zu lesenden Diagrammen auf der untersten Linie als sehr zahlreiche, kurze Vertikalstriche sichtbar sind. Abszisse ist also Zeit, Ordinate die Geschwindigkeit der katalytischen Sauerstoffgas-Entwicklung.

4. Elektrische Erregung von katalytischen Pulsationen in schwingungsfähigen Systemen.

Versuche mit Gleichstrom.[1]

Das System war (nach Zugabe von 1 Tropfen 0,5°/₀iger Essigsäure auf 50 ccm H_2O_2-Lösung) ohne spontanen Puls, aber in einem schwingungsfähigen, katalysierenden Zustande. Wie man in unserem Diagramm Blatt XVI Zeile 4 u. 5 (Tafel I) sieht, löst beim Vertikalstrich Signal *a* eine kurze mechanische Erschütterung des Pulsgefäßes eine Pulsation aus, indem dabei die katalytische Sauerstoffgas-Entwicklung unter deutlichem Erscheinen einer Haut kurze Zeit aussetzt. Zwischen den Signalen *b*→*c* machten wir die katalysierende Quecksilberoberfläche von nahezu 10 qcm zur Kathode eines Gleichstromes mit 0,7 Milliampere, längs der Kurvenstrecke *c*→*d* mit 1,1 Milliampere, längs *d*→*e* mit 2 Milliampere, von *e* an mit 3 Milliampere. Man sieht deutlich, wie mit steigender Stromdichte die Pulsfrequenz zunimmt und wie der Puls im Beginn der folgenden Zeile nach Unterbrechung des Stromes wieder vollständig verschwunden ist, aber bei Signal *f* mit 3 Milliampere Strom wiederkehrt, von Signal *g*

[1]) Nach v. Frey Lehrb. d. Physiol. 1904, S. 263 und Biedermann l. c. S. 91 gibt es physiologische Systeme, welche auch auf Dauerstrom reagieren.

an mit der offenbar zu großen Stromdichte 4 Milliampere aber allmählich verschwindet und einer starken, anscheinend aperiodischen Katalyse Platz macht, welche nach Abstellen des Stromes bei *h* rasch abnimmt, um nach Wiedereinschaltung eines kathodischen Stromes von 2,5 Milliampere bei Signal *i* wieder in Pulsation überzugehen.[1])

Im folgenden Diagramm Blatt XVII war das System durch Zugabe von 10 Tropfen Natriumacetat und 1 Tropfen Normalnatronlauge zu starker Katalyse ohne Pulsation angeregt. Die Quecksilberoberfläche erschien dabei blank und wurde erst bei anodischer Polarisation unter starker Verminderung der Katalyse mit einer braunen Haut bedeckt, die sich bei Stromunterbrechung unter besonders heftiger Gasentwicklung rasch wieder auflöste. Auch dieses System erwies sich als „schwingungsfähig", aber bei anodischer Gleichstrompolarisation und erst von einem Schwellenwerte der Stromdichte an. So wird die katalytische Aktivität der Quecksilberoberfläche anfangs in Blatt XVII Zeile 4 (Tafel I) bei anodischer Polarisation mit 6 Milliampere pro ca. 10 qcm noch durch keine Pulsation unterbrochen, sobald man aber den Strom beim Signal *a* auf 6,5 Milliampere anodischen Gleichstrom steigerte, trat eine Pulsation der Katalyse von sehr großer Periodendauer ein. Nach Stromunterbrechung in der folgenden Zeile 5 war der Puls wieder verschwunden und trat beim Signal *a* mit dem anodischen Strom 6,5 Milliampere wieder auf (bei Signal *b* lief die sehr langsam rotierende Trommel etwas rascher), verschwand bei Signal *c* wieder mit dem Strome, dessen Einschaltung bei Signal *d* mit 6,5 Milliampere wieder Pulsation ergab, die am Signal *e* mit 7 Milliampere, am Signal *f* mit 7,5 Milliampere und am Signal *g* mit 8 Milliampere sich charakteristisch änderte.

Versuche mit intermittierendem Gleichstrom.

Durch Einschaltung eines federnden Stromschlüssels wurde intermittierender Gleichstrom erzeugt.

---

[1]) Die durch Elektrolyse entwickelten Gasmengen sind gegenüber den katalytisch entwickelten verschwindend klein und wirkten daher, wie wir uns direkt überzeugt haben, nicht merklich auf das Manometer. Unsere hier registrierten katalytischen Pulsationen sind also nicht mit den schon lange bekannten Pulsationen bei Elektrolysen (Lit. vgl. bei Thiel und Windelschmidt l. c.) zu verwechseln.

Das System war in (Tafel I) Blatt XVI, Zeile 2 u. 3 dasselbe wie oben mit kathodischem Gleichstrom (Blatt XVI, Zeile 4 u. 5). In Zeile 2 war das bis zum Signal a stromlose System ohne Pulsation, welche sogleich auftrat, als zwischen $a \rightarrow b$ und zwischen $c \rightarrow d$ ein kathodischer intermittierender Gleichstrom von 2 Milliampere (immer je 2 Sekunden lang geschlossen und je 2 Sekunden lang geöffnet) angewandt wurde. Völlig stromlos auf der Strecke $b \rightarrow c$ und auf der Strecke $d \rightarrow e$ gab das System keine Pulsation, ebenso in Zeile 3 auf den stromlosen Strecken bis f und $g \rightarrow h$, während auf den Strecken $f \rightarrow g$ und $h \rightarrow i$ alle 10 Sekunden ein 10 Sekunden lang dauernder kathodischer Stromstoß von 3,2 Milliampere und von Signal i an Stromstöße mit doppelter Periodendauer angewandt wurden.

In (Tafel II) Blatt XXII wurde ebenfalls intermittierender kathodischer Gleichstrom von verschiedener Periodendauer angewandt, und zwar war das ohne Zusatz pulslose System in Zeile 5 bis zum Signal a stromlos, dann aber war die Dauer des Stromschlusses von je 1,7 Milliampere und auch die Dauer der Stromunterbrechung

auf	der	Strecke	$a \rightarrow b$	je	1	Sekunden,
„	„	„	$b \rightarrow c$	„	2	„
„	„	„	$c \rightarrow d$	„	3	„
„	„	„	$d \rightarrow e$	„	4	„
„	„	„	$e \rightarrow f$	„	5	„

Ebenso war in Zeile 6 das System bis zum Signal g stromlos und pulslos, dann aber herrschte intermittierender, kathodischer Gleichstrom wie oben, aber mit 1,8 Milliampere und zwar war die Dauer von Stromschluß und von Stromunterbrechung

auf	der	Strecke	$g \rightarrow h$	je	5	Sekunden,
„	„	„	$h \rightarrow i$	„	6	„
„	„	„	$i \rightarrow k$	„	7	„
„	„	„	$k \rightarrow l$	„	8	„ .

Von l an war das System wieder strom- und pulslos. Die etwas größeren Striche in den Zeitmarken der Zeile 6 signalisieren (als ziemlich ungenaue Handmarken) Stromschließung und zeigen, daß die Stromschließung hier meistens mit einer Inaktivitätsphase der Pulsation koinzidierte. Wir sehen deutlich den

Einfluß der Periodendauer von Stromschließung- und -Öffnung auf die Art der Pulsation.

In Blatt XXIV (Tafel II) wurde über der untersten Linie, welche wie sonst die Zeitmarken des Sekundenpendels enthält, unterhalb der geraden Nulllinie der Druckkurve mit einem aus einem elektrischen Läutewerk improvisierten Deprez-Signal noch eine Linie geschrieben, welche durch Aufsteigen bzw. Absteigen die Momente der Stromschließung bzw. Öffnung registrierte und somit auch die Dauer des Stromes anzeigt. Hier wurde ein System ohne Zusatz, das wieder ohne Strom keinen Puls aber lebhafte Katalyse zeigte und dessen Puls durch mechanische Erschütterung sehr leicht erregbar war, mit intermittierendem Gleichstrom von verschiedener Dichte behandelt. In Zeile 4 wurde bei stets nahezu gleicher Periodendauer des intermittierenden kathodischen Gleichstromes von ca. 4 Sekunden seine Stromdichte variiert. Diese betrug auf den Strecken $a \rightarrow b$ 0,5; $b \rightarrow c$ 1,0; $c \rightarrow d$ 1,5; $d \rightarrow e$ 2,0; $e \rightarrow f$ 2,5; $f \rightarrow g$ 3,0; $g \rightarrow h$ 2,0 und $h \rightarrow i$ 1 Milliampere pro 10 qcm. Als man bei i den Strom, wie man auch am Deprez-Signal in unserem Diagramm erkennt, ausschaltete, verschwand auch wieder die katalytische Pulsation, um bei neuer Stromeinschaltung wieder aufzutreten.

In Blatt XXIV, Zeile 5 wurde beim Signal k der bis dahin kathodische, nach den im Diagramm sichtbaren Angaben des Deprez-Signales intermittierende Gleichstrom von 1 Milliampere pro 10 qcm kommutiert, so daß die aktive Quecksilberelektrode jetzt auf der folgenden Strecke kl bei derselben Stromdichte Anode war. Wie man sieht, reicht dieselbe Stromdichte anodisch nicht aus, die katalytischen Pulsationen zu erregen, welche allmählich wieder auftraten, als nach neuem Kommutieren bei l dieselbe Stromdichte wieder kathodisch als intermittierender Gleichstrom einwirkte.

Versuche mit Wechselstrom.

Nach der oben nachgewiesenen Erregbarkeit der katalytischen Pulsation durch elektrischen Gleichstrom war es von Interesse, auch Wechselströme anzuwenden. Wir stellten denselben zunächst in der Weise her, daß wir auf die Achse eines mit Tourenzähler versehenen kleinen Elektromotors einen Kommu-

tator montierten und mit dessen Hilfe einen gemessenen Gleichstrom kommutierten. Da Selbstinduktionen hier nicht eingeschaltet waren, so erhielten wir natürlich keinen sinusähnlichen Wechselstrom, sondern solchen von der Form Fig. 2. Wir haben nun untersucht, ob die Pulserregung bei gleicher Stromdichte von der Wechselzahl abhängig ist. Das System war dasselbe wie in unserem ersten Gleichstromversuche (S. 72). In (Tafel II) Blatt XVI, Zeile 6 wurde vom Signal 1 an Wechselstrom von 2,5 Milliampere pro ca. 10 qcm eingeleitet mit 50 Wechseln in der Sekunde. Derselbe erregte, wie man sieht, alsbald katalytische Pulsation. Als die Wechselfrequenz aber von Signal 2 an auf 91 pro Sekunde gesteigert wurde, verschwanden im Diagramm die Pulsationen, während die katalytische Gasentwicklung stark bestehen blieb. Diese Pulsationen kehrten auch nicht wieder, als man von Signal 3 an die Wechselzahl wieder auf 50 herabsetzte. Als man nun von Signal 4 an den Strom überhaupt abschaltete, ging, wie man sieht, die Katalyse erheblich, und zwar ungefähr wieder auf den anfänglichen, ebenfalls stromlosen Betrag vor Signal 1 zurück. Bei Signal 5 wurde wieder der anfängliche Strom von 2,5 Milliampere mit 50 Wechseln pro Sekunde eingeschaltet und erregte jetzt, wie man sieht, in dem durch die stromlose Pause „erholten" Systeme wieder Pulsationen. Dasselbe Resultat gab eine Wiederholung in zwei folgenden Zeilen 7 und 8 des Blattes XVI, die wir deshalb nicht reproduzieren wollen.

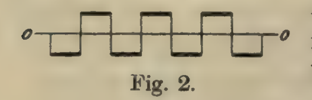


Fig. 2.

Versuche mit Induktionsströmen.

Schließlich haben wir in Anlehnung an physiologische Methoden die sekundären Wechselströme eines großen Ruhmkorffschen Induktoriums (Funkenlänge zirka 40 cm) mit Foucaultschem Unterbrecher[1]) auf die katalysierende Quecksilberoberfläche als Elektrode einwirken lassen. Der Primärstrom des Induktoriums bewegte gleichzeitig das Deprezsche Stromsignal, dessen oscillierende Kurve in (Tafel II) Blatt XXIII hier wieder über der untersten Sekundenmarkenlinie sichtbar

[1]) Cfr. Verworn, Physiol. Praktikum S. 166.

ist. Das „reizbare“ System war ohne Zusätze hergestellt, zeigte lebhafte Katalyse und keinen spontanen Puls. Wie wir aus Zeile 5 und 6 unseres Blattes XXIII (Tafel II) und anderen hier nicht mitgeteilten beim Vergleich mit der Kurve des Deprez-Signales ersehen, treten die Pulse bei „Reizung“ mit dem Induktorium deutlich auf bei geringen Wechselzahlen, nämlich bei Periodenlängen von ca. 2 bis 8 Sekunden, verschwinden aber wieder bei höheren Wechselzahlen.[1]) Wir haben uns auch überzeugt, daß die zur Erregung von Pulsationen nötige Stromstärke im primären Stromkreis um so größer sein muß, je höher die Wechselzahl des Stromes pro Sekunde ist, doch müssen wir die Ausarbeitung solcher Versuche verschieben, bis wir im Besitze von Apparaten zu exakterer Messung und zur besseren Regulierung der Induktionsströme sind.

5. Elektrische Beeinflussung bereits vorhandener, spontaner, katalytischer Pulsationen.

Nach dem, was wir bezüglich der Erregbarkeit katalytischer Pulsationen durch elektrische Ströme gesehen haben, wird es uns nicht wundernehmen, daß Systeme, welche bereits spontane Pulsation besitzen, sich in ihrer Pulsation elektrisch beeinflussen lassen.

Versuche mit Gleichstrom.

Ein System, welches nach Zusatz von 1,5 Tropfen normaler Natriumacetatlösung auf 50 ccm 10% H_2O_2-Lösung im stromlosen Zustande bereits spontan sehr schöne rhythmische katalytische Pulsationen besaß, zeigte, wie man in Blatt XI, Zeile 3 (Tafel III) sieht, noch keine erheblichen Änderungen dieses Pulses, als man von den Signalen *a*, *b*, *c* an sukzessive 0,5; 1,0 und 1,5 Milliampere kathodischen Gleichstrom auf die (wie immer) 10 qcm große katalysierende Quecksilberoberfläche wirken ließ. Erst als man (XI Zeile 4) auf das

[1]) Ob die von A. Lebedeff mitgeteilten, noch sehr zweifelhaften und provisorischen Ergebnisse (Diese Zeitschr. 9, 392, 1908; Bull. d l. Soc. chim. de France 1908, p. 55) über den Einfluß von Wechselströmen „hoher Frequenz“ auf die katalytische Wirkung von Fermenten und von kolloidalem Platin hiermit in Zusammenhang stehen, läßt sich zurzeit noch nicht beurteilen.

wieder stromlos gemachte System von Signal *d* an kathodischen Gleichstrom von der Stärke 2 Milliampere längs der Zeit *d* → *e* wirken ließ, trat bei dieser Stromschwelle Auslöschung der Pulsation und hohe katalytische Aktivität ein, welche bei Signal *e* sofort wieder in Pulsation umschlug, als man von hier an den Strom ausschaltete. Schaltete man nun bei Signal *f* wieder 1,5 Milliampere Kathodenstrom ein, so verschwanden die Pulsationen wieder.

Ein ganz ähnliches Resultat gab anodischer Gleichstrom in Blatt XII, Zeile 4 u. 5 (Tafel III), wo der bis zum Signal *a* normale stromlose spontane katalytische Puls auf den Strecken *a* → *b* bzw. *b* → *c* durch den Strom von 0,5 bzw. 1,0 Milliampere nicht erheblich geändert[1]), bei Erreichung des Schwellenwertes 1,5 Milliampere, von Signal *c* an aber erhebliche Störung und merkliche Depression der katalytischen Reaktion zeigt, bis von Signal *d* an der Puls durch die noch höhere Stromdichte 2 Milliampere pro 10 qcm nahezu ausgelöscht war. Der Puls trat aber von Signal *e* an, wo der Strom ganz ausgeschaltet wurde, wieder in ganz normaler Weise ein.

Versuche mit Wechselstrom.

Der Wechselstrom wurde hier (geradeso wie auf S. 75 u. 76 angegeben) mit Hilfe eines rotierenden Kommutators erzeugt und hatte daher auch wieder ungefähr die Form der Fig. 2. In Diagramm Blatt IX hatte sich in Vorversuchen das nach Zusatz von 2 Tropfen Natriumacetatzusatz in normaler Weise stromlos bereits spontan pulsierende System noch als unempfindlich gegen Wechselstrom von 12 Milliampere pro 10 qcm gezeigt. In Blatt IX, Zeile 4 (Tafel III) sehen wir zuerst die Pulsation des stromlosen Systemes, von Signal *a* an wurde ein Wechselstrom von 24 Milliampere mit einer ungefähren Wechselzahl 80 pro Sekunde angeschaltet, welcher nunmehr offenbar die „Reizschwelle" überschritten hatte und eine erhebliche Beeinflussung des katalytischen Pulses auf der Strecke *a* → *b* (Zeile 4 bis 5) zeigt. Auf der Strecke *b* → *c* betrug die Wechselstromstärke 26 Milliampere. Als man nun bei nahezu konstanter Stromstärke von Signal *c* an die Wechselzahl sehr erheb-

[1]) Die beiden Pulse hinter *a* sind nur durch einen Fehler des Clichés etwas verzerrt.

lich steigerte, begann sich, wie man sieht, die katalytische Pulsform wieder der stromlosen Form deutlich zu nähern. Auch hier also scheint der Einfluß des Wechselstromes bei gleicher Stromdichte um so geringer zu sein, je höher die Wechselzahl ist.

Ähnliches ist besonders schön in Blatt XV, Zeile 3 (Tafel III) zu sehen, wo wir bis zum Signal *a* den stromlosen Puls haben. Wechselstrom von 5 bzw. 10 Milliampere pro 10 qcm Quecksilberfläche veränderte auf den Kurvenstrecken $a \rightarrow b$ bzw. $b \rightarrow c$ bei einer Wechselzahl von 9 pro Sekunde den Puls noch nicht, dagegen löschte er ihn aus unter starker katalytischer Reaktion auf der Kurvenstrecke $c \rightarrow d$, bei welcher die höhere Stromstärke 15 Milliampere mit derselben Wechselzahl herrschte. Als man aber von Signal *d* an die Wechselzahl bei gleicher Stromdichte auf 57 pro Sekunde erhöhte, trat wieder ein nahezu normaler katalytischer Puls ein.

Diese Auslöschung des Pulses durch genügend starken Wechselstrom sehen wir auch in Blatt XIV, Zeile 5, (Tafel III) wo bis Signal *a* spontaner Puls ohne Strom herrschte. Dieser Puls wurde auf der Kurvenstrecke $a \rightarrow b$ durch einen Wechselstrom von 10 Milliampere pro 10 qcm mit 48 Wechseln pro Sekunde unter starker Erhöhung der Katalyse ausgelöscht, kehrte auf der stromlosen Kurvenstrecke $b \rightarrow c$ wieder, verschwand wieder auf der Kurvenstrecke $c \rightarrow d$ durch Wechselstrom von 8 Milliampere und 48 Wechseln pro Sekunde und kehrte bei *d* nach Abschaltung des Stromes wieder. Dieses Spiel konnte noch oft wiederholt werden, doch sind „Ermüdungserscheinungen" vorhanden, die wohl auf spurenhafte Produkte der Elektrolyse (vermutlich OH'- oder $H^{\cdot}$-Ion) zurückzuführen sind.

6. Schlufs.

In den hier beschriebenen Versuchen hat sich also gezeigt:

I. Daß das zu pulsierenden katalytisch-chemischen Reaktionen fähige, aber noch in aperiodischem Stoffwechsel begriffene System durch anodischen und kathodischen Gleichstrom, durch intermittierenden Gleichstrom, durch Wechselstrom und durch Induktionsschläge zu periodischen, katalytischen Pulsationen „gereizt" werden kann.

II. Daß eine bereits spontan pulsierende Katalyse

in ihrer Schwingungsform, ihrer Periode, ihrer Intensität usw. durch Gleichstrom und Wechselstrom erheblich beeinflußt und sogar ihrer gewöhnlichen Pulsation beraubt werden kann.

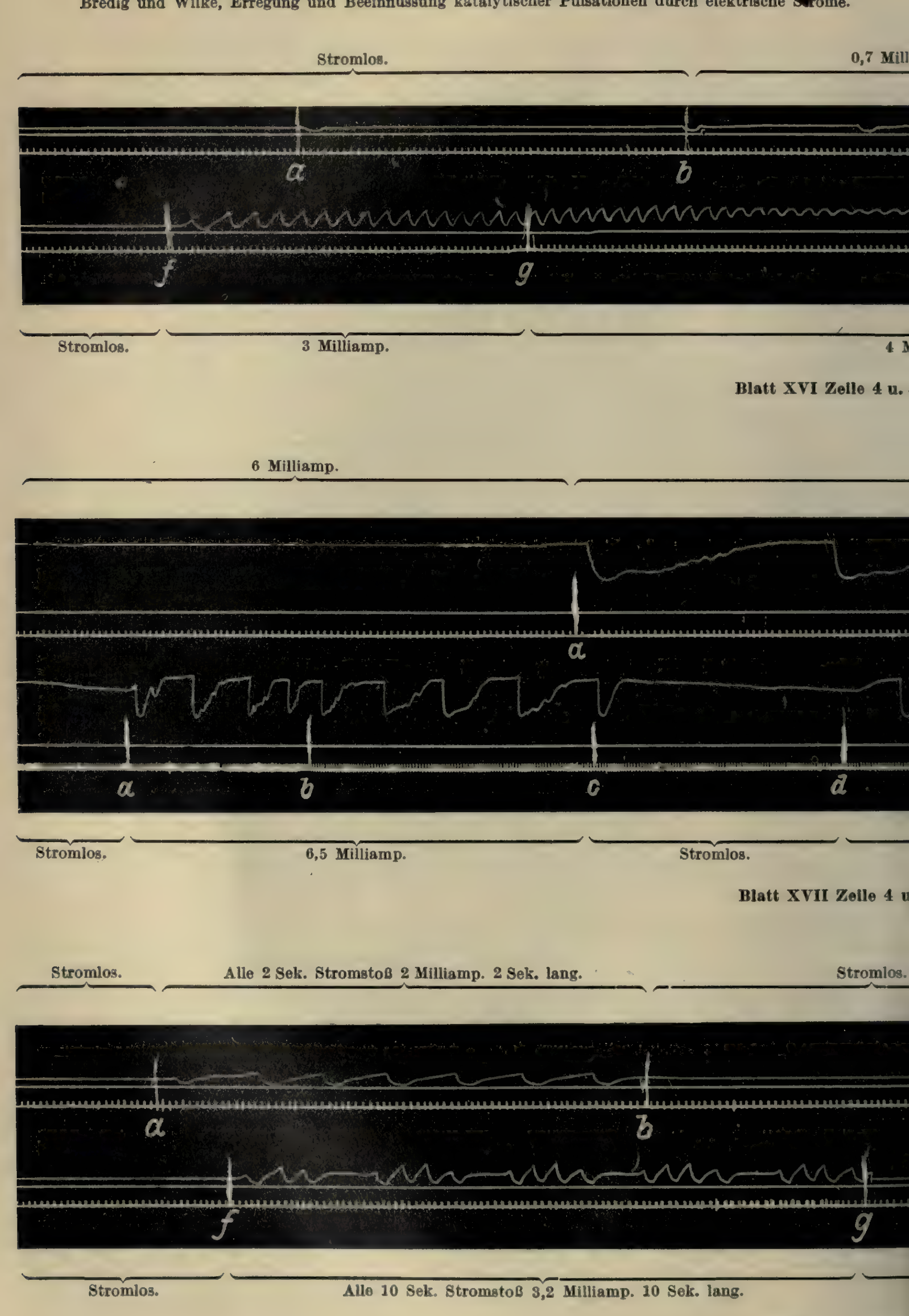
Es wäre verfrüht, eine ausführliche Theorie dieser Erscheinungen aufzustellen, bevor die Versuche in eine quantitativ genauer meßbare Form, speziell bezüglich der Abhängigkeit des Pulses und seiner eventl. Reizschwelle von Wechselzahl und Form des Stromes, Zusätzen usw. gebracht sind. Eine Erklärung derselben und ihrer Ähnlichkeit mit physiologischen Erscheinungen wird Anschluß zu nehmen haben einerseits an die Untersuchungen A. von Antropoffs[1]) im hiesigen Institute, welche gezeigt haben, wie die Pulsationen mit dem Auftreten und Verschwinden einer sehr instabilen sauerstoffhaltigen Zwischenverbindung und ihrer Elektrolyse durch die elektrische Potentialdifferenz zwischen blankem und hautbedecktem Quecksilber zusammenhängen, andererseits an die Theorie der Elektrolyse, Polarisation, Oberflächenspannungs- und Konzentrationsänderungen an Heterogenitätsflächen, wie sie in der Reststromtheorie, der Polarisationstheorie durch Wechselströme und der Theorie der Nervenreizung von W. Nernst[2]), F. Krüger, P. G. Gundry, J. Bernstein, L. Hermann u. a. vorliegen. Es ist nicht ausgeschlossen, daß auch elektrocapillare Vorgänge[3]), (ev. unter Zerreißung der chemisch-instabilen Haut) hier mitspielen, wodurch sich unsere Versuche denjenigen von B. Danilewsky (l. c.) etwas nähern würden, von denen sie sich aber wohl noch durch den bei uns sehr stark hervortretenden Chemismus erheblich unterscheiden. Jeden-

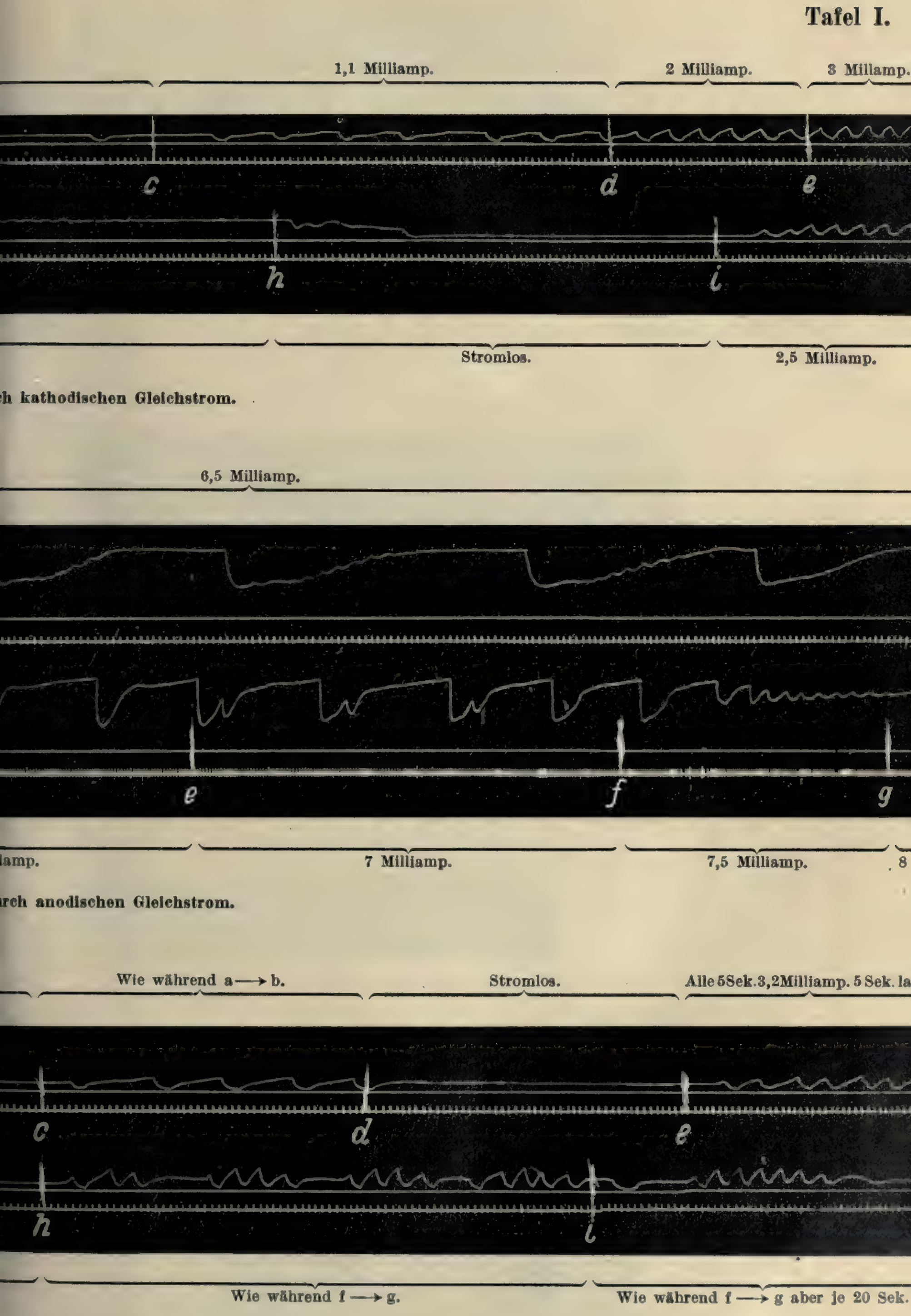
---

[1]) A. v. Antropoff Zeitschr. f. physikal. Chem. **62**, 513, 1908. Daselbst zahlreiche Diagramme.

[2]) W. Nernst, Nachr. d. kgl. Gesellsch. d. Wiss. zu Göttingen, math. phys. Kl. **1899**, 104. — Sitzungsber. d. Kgl. Preuß. Akad. d. Wiss. Berlin 1908, 3. — E. Reiß, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **117**, 578, 1907. — W. Nernst, ebenda **122**, 275, 1908. — F. Krüger, Zeitschr. f. physikal. Chem. **45**, 1, 1903. — Gundry, ebenda **53**, 177, 1905. — J. Bernstein und A. Tschermak, Pflügers Arch. **112**, 439, 1906. — J. Bernstein, ebenda **122**, 129. — L. Hermann, Wied. Ann. IV, **12**, 932, 1903; **17**, 501, 1905.

[3]) J. Bernstein, Pflügers Arch. **85**, 271. 1901. — Naturwiss. Rundschau **19**, 197; **16**, 413, 429, 441. — H. Freundlich, Capillarchemie u. Physiologie, Dresden 1907, S. 26.


Stromlos.
0,7 Milli
a
b
f
g
Stromlos.
3 Milliamp.
4 M
Blatt XVI Zeile 4 u.
6 Milliamp.
a
a
b
c
d
Stromlos.
6,5 Milliamp.
Stromlos.
Blatt XVII Zeile 4 u
Stromlos.
Alle 2 Sek. Stromstoß 2 Milliamp. 2 Sek. lang.
Stromlos.
a
b
f
g
Stromlos.
Alle 10 Sek. Stromstoß 3,2 Milliamp. 10 Sek. lang.
Blatt XVI Zeile 2


1,1 Milliamp.
2 Milliamp.
3 Millamp.
c
d
e
h
i
Stromlos.
2,5 Milliamp.
h kathodischen Gleichstrom.
6,5 Milliamp.
e
f
g
iamp.
7 Milliamp.
7,5 Milliamp.
8
rch anodischen Gleichstrom.
Wie während a ⟶ b.
Stromlos.
Alle 5 Sek. 3,2 Milliamp. 5 Sek. la
c
d
e
h
i
Wie während f ⟶ g.
Wie während f ⟶ g aber je 20 Sek.
durch intermittierenden Kathodenstrom.

Tafel II.

Je 5 Sek. Pause u. Stromstoß 1,7 Milliamp.

Blatt XXII. Zeile 5.

e f

Zeile 6.

l

use u. Stromstoß 1,8 Milliamp. Stromlos.

Stro amp. 2,0 Milliamp. 1,0 Miiliamp, Stromlos.

Blatt XXIV. Zeile 4.

g h i

Deprez-Signal
Zeitmarken.

Zeile 5.

l

Deprez-Signal.
Zeitmarken.

lamp. anod. 1 Milliamp. kathod.

om.

50 Wechsel pro Sek.

Blatt XVI. Zeile 6.

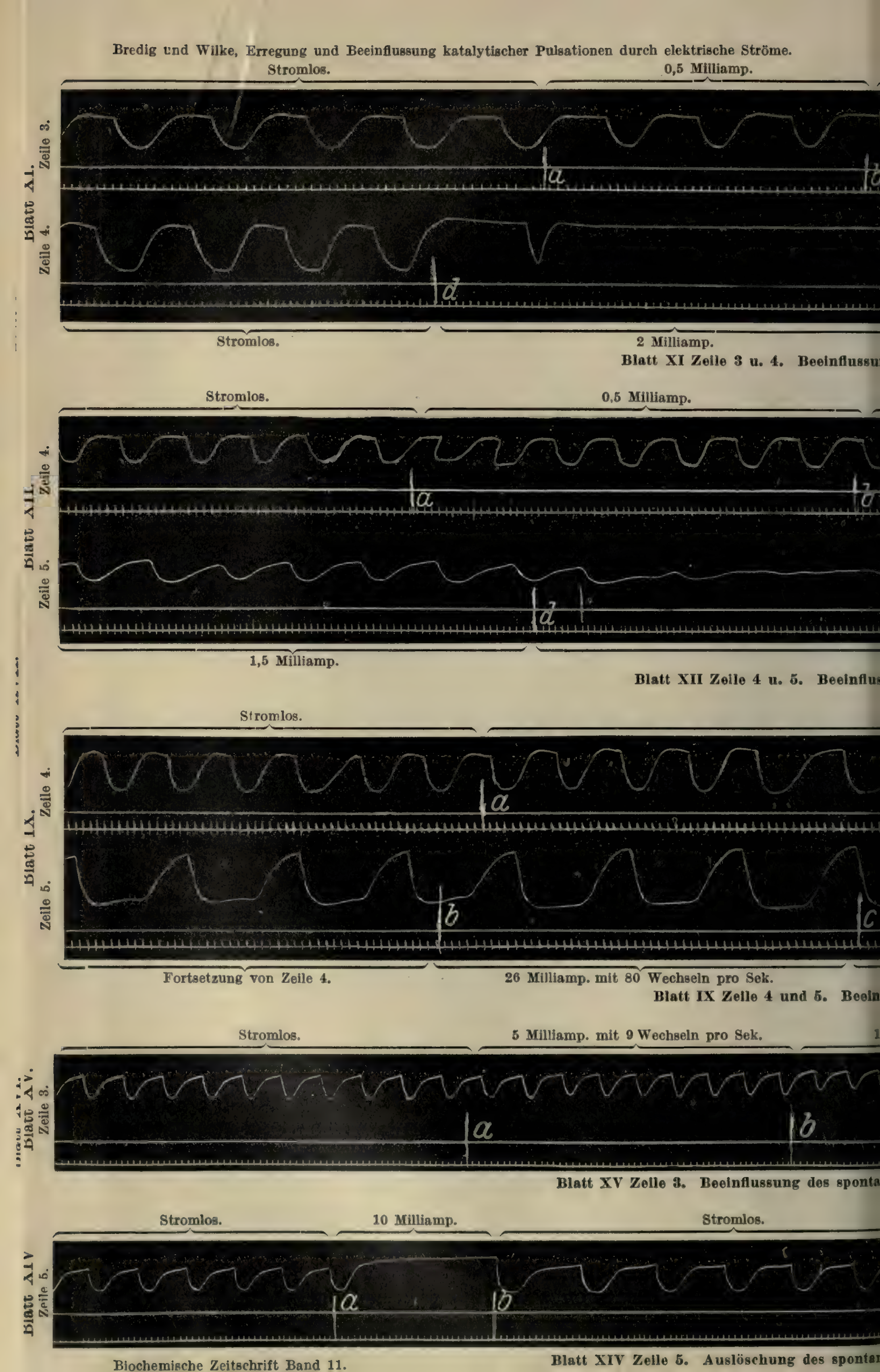
5

Blatt XXIII. Zeile 5.

Deprez-Signal.
Zeitmarken.

Zeile 6.

Deprez-Signal.
Zeitmarken.



Blatt XI Zeile 3 u. 4. Beeinflussu

Blatt XII Zeile 4 u. 5. Beeinflu

Blatt IX Zeile 4 und 5. Beein

Blatt XV Zeile 3. Beeinflussung des sponta

Blatt XIV Zeile 5. Auslöschung des spontar

Tafel III.

1,0 Milliamp. 1,5 Milliamp.

c

f

Stromlos. 1,5Milliamp.

ulses mit kathodischem Gleichstrom.

Milliamp. 1,5 Milliamp.

c

e

Stromlos.

Pulses mit anodischem Gleichstrom.

24 Milliamp. mit 80 Wechseln pro Sek.

bei stark erhöhter Wechselzahl.

nen Pulses mit Wechselstrom.

echseln pro Sek. 15 Milliamp. mit 9 Wechseln. 15 Milliamp. mit 57 Wechseln pro Sek.

c d

chselstrom verschiedener Dichte und Frequenz.

8 Milliamp. Stromlos.

d

em Wechselstrom von 48 Wechseln pro Sekunde.

falls ist das Ziel derartiger Versuche, „reizbare" Chemismen zu konstruieren, so schwer berechenbar und unvergleichbar mit dem Organismus[4]) sie zurzeit auch noch erscheinen mögen, wohl auch für den Physiologen nicht uninteressant, der es sich nicht nur zur Aufgabe setzen soll, die Stoffe des Organismus durch präparative Synthese herzustellen, sondern auch die Vorgänge und Funktionen des Organismus durch physikalisch-chemische Synthese so viel wie möglich, wenigstens in Modellen, nachzuahmen und sie dadurch ebenso wie durch die vorangegangene physiologische Analyse aufzuklären.

[4]) Die Theorien von Du Bois-Reymond, Pflüger, Hermann, Hering, J. Loeb u. a. siehe bei Biedermann l. c. S. 713 und in den zitierten physiol. Werken. Vergl. auch P. Wolterson, Akadem. Proefschrift Utrecht 1907. Quantitative Betrekking tuschen Vagusprikkeling en Hartswerking.

Ähnlichkeiten und Unterschiede zwischen Seifen und Komplementen.

Von

A. v. Korányi, Budapest.

Die hämolysierende Wirkung einer Seifenlösung wird nach L. v. Liebermann[1]) durch Albumin aufgehoben. Ein an sich nicht hämolysierendes Seifealbumingemisch zeigt nun eine Reihe von Eigenschaften, die an diejenigen des Komplementes eines Normalserums erinnern. Ein solches Gemisch löst Blutkörperchen, wenn demselben ganz geringe Ölsäuremengen zugesetzt werden, wie Komplement in Gegenwart eines entsprechenden Immunkörpers. In beiden Fällen bleibt die Hämolyse bei 0^0 und nach Inaktivierung durch Erwärmen auf 56 bis 60^0 aus. Sie wird in beiden durch $CaCl_2$ und $MgCl_2$ gehemmt. Gleiche Mengen von Komplement und von Seifealbumingemisch lösen nach v. Liebermann und v. Fenyvessy[2]) mit steigender Konzentration abnehmende Hämoglobinmengen. Blutserum enthält beträchtliche Seifenmengen, deren hämolytische Wirkung durch Eiweißstoffe, $CaCl_2$ usw. aufgehoben wird. Nach Zusatz geringer Ölsäuremengen löst Serum Blutkörperchen wie ein Eiweißseifegemisch. Noguchi[3]) gelangte unabhängig von v. Liebermann zu ähnlichen Resultaten. Nach ihm sind die Komplemente Seifen, deren hämolytische Wirkung durch andere Bestandteile des Plasmas aufgehoben ist. Er fand, daß mit Immunkörpern beladene Blutkörperchen durch Seife leichter gelöst werden als unveränderte. Nachdem Hecker[4]) die Richtigkeit dieser Beobachtung bestritten hat, zeigten v. Dungern

[1]) Diese Zeitschr. 4, 25.

[2]) Ibid. 5, 99.

[3]) Ibid. 6, 327.

[4]) Arbeiten aus d. Institut f. exp. Ther. zu Frankfurt 1907, S. 39.

und Coca[1]), daß sie unter gewissen Bedingungen zutreffen kann, u. a. jedoch die Anwesenheit von Immunkörpern die Seifenhämolyse im Sinne von Hecker erschwert. Ihre Versuche beweisen, daß von einer wirklichen Identität von Komplement und Seife nicht gesprochen werden kann. Trotzdem ist die Reihe der Analogien zwischen dem Verhalten beider eine so auffallende, daß ein weiteres Studium des Gegenstandes erwünscht ist.

1. Eine mit physiologischer Kochsalzlösung frisch bereitete Seifenlösung oder ein frisch bereitetes Seifealbumingemisch, welches Blutzellen eben noch löst, verliert innerhalb ein oder zwei Tagen seine hämolytische Kraft. Diese Tatsache erinnert an das ähnliche Verhalten des Komplementes eines frischen Serums. Worauf diese Veränderung des Serums zurückzuführen ist, ist unbekannt. Der Grund der analogen Erscheinung an Seifenlösungen kann dagegen leicht ermittelt werden. Die Oberflächenspannung einer Seifenlösung nimmt mit steigender Konzentration nach bekannten Gesetzen ab. Bei bekanntem Zusammenhang zwischen Konzentration und Oberflächenspannung kann aus letzterer auf die Konzentration geschlossen werden. In folgenden Versuchen benützte ich zur Bestimmung der Oberflächenspannung J. Traubes Stalagmometer. Die Oberflächenspannung einer frisch bereiteten hämolysierenden Lösung von ölsaurem Natrium war bei einer Konzentration von 0,05 % 0,57, wenn die des Wassers als Einheit gilt. Nach 24 Stunden nahm die Tropfenzahl der Lösung so weit ab, daß sie die relative Oberflächenspannung 0,71 ergab. Diese Oberflächenspannung entsprach nach einer am vorigen Tage erhaltenen Kurve, welche den Zusammenhang zwischen Konzentration und Oberflächenspannung meiner Seifenlösung veranschaulichte, der Konzentration 0,018 %. Innerhalb 24 Stunden hat also die Konzentration meiner Seifenlösung scheinbar um 0,032 % abgenommen, eine Erscheinung, welche die gleichzeitige Abnahme der hämolytischen Wirkung vollkommen erklärt. Die scheinbare Abnahme der Konzentration von Seifenlösungen hängt mit der den hydrophylen Kolloiden gemeinsamen Eigenschaft, Häutchen an der Oberfläche der Flüssigkeit zu bilden, zusammen,

[1]) Berl. klin. Wochenschr. 1908, 347.

eine Tatsache, die dem Willard Gibbsschen Gesetze entspricht, nach welchem Körper, die die Oberflächenspannung erniedrigen, ihre Konzentration an der Oberfläche der Flüssigkeit erhöhen und in deren Inneren herabsetzen. Da die Komplementwirkung eines frischen Serums mit der Zeit genau so abnimmt wie die hämolysierende Wirkung einer Seifenlösung, liegt der Gedanke nahe, daß das Komplement den Seifen ähnlich zu denjenigen Körpern gehört, welche die Oberflächenspannung stark herabsetzen und demzufolge ein starkes Bestreben zeigen, sich an Oberflächen anzusammeln, während die große Konstanz inaktiver Immunsera beweist, daß die Immunkörper ganz anderer Natur sind.

2. Bei 56 bis 60° wird ein Seifealbumingemisch innerhalb einer halben Stunde „inaktiviert". Es fragt sich nun, ob diese Inaktivierung einer ähnlichen Erscheinung zuzuschreiben ist, wie die mit der Zeit spontan entstehende Inaktivität dieses Gemisches. Aus meinen Versuchen folgt, daß das Erwärmen die Oberflächenspannung des Seifealbumingemisches nicht verändert, daß es sich also bei der Inaktivierung durch Wärme um einen anderen Prozeß handelt, welcher der Annahme von v. Liebermann entsprechend zu einer festeren chemischen Verbindung zwischen Seife und Albumin führen dürfte.

3. Das mächtige Bestreben der Seife, sich an Oberflächen anzusammeln, führt zu ihrer Bindung durch Körper mit großer Oberflächenentwicklung. Daraus ist die Tatsache zu erklären, daß die Oberflächenspannung einer Seifenlösung durch Albumin herabgesetzt wird. Die Oberflächenspannung einer 1,5%igen Seifenlösung, welche 0,08% Albumin enthält, gleicht derjenigen einer 0,04%igen reinen Seifenlösung. Wie die durch Albuminzusatz erhöhte Oberflächenspannung einer Seifenlösung mit ihrer hämolytischen Wirkung zusammenhängt, zeigt folgende Versuchsreihe.

3% Seife	1% Albumin	0,85% NaCl	Oberflächenspannung, die des Wassers = 1	gelöstes Hb in Graden einer Farbenskala
5 ccm	—	5,00 ccm	0,37	102
5 „	0,10 ccm	4,90 „	0,39	90
5 „	0,20 „	4,80 „	0,41	60
5 „	0,30 „	4,70 „	0,42	67
5 „	0,40 „	4,60 „	0,44	62

Zu ähnlichen Resultaten gelangt man, wenn man der Seifenlösung statt Albumin Serum zusetzt.

Landsteiner und Stankovic[1]) haben gezeigt, daß das Komplement durch Eiweißstoffe ebenfalls adsorbiert wird, eine Tatsache, welche ebenfalls als eine Analogie zwischen Seife und Komplement zu betrachten ist. Komplement binden jedoch außer Eiweiß viele kolloidale Lösungen und Suspensionen. Dasselbe gilt selbstverständlich auch für Seife. Folgende Versuche zeigen, daß in dieser Beziehung weitgehendste Übereinstimmung besteht.

a) 0,60 ccm Seifealbumingemisch, 0,10 ccm sehr verdünnte Ölsäure und 0,20 ccm phys. Kochsalzlösung lösten bei 37° die Blutzellen von 0,5 ccm einer 5%igen Blutkörperchensuspension innerhalb einer halben Stunde. Als entsprechende Mengen der Kochsalzlösung durch 0,20 ccm Typhusbouillon. 0,05 ccm Tuberkulin, 0,10 ccm Typhusimmunserum oder 0,10 ccm Maraglianos Tuberkuloseserum ersetzt wurden, wurde die Hämolyse vollständig gehemmt.

b) In gleichzeitig ausgeführten Versuchen von Kentzler und Királyfi mit denselben Antigenen und Seren, die im obenerwähnten Versuche verwendet wurden, sahen wir genau dasselbe bei der Verwendung von spezifischem Immunserum und Komplement als hämolysierendes System. 0,10 ccm frisches Schweineserum in 10facher Verdünnung, 0,10 ccm phys. Salzlösung und 0,10 ccm inaktiviertes rinderblutlösendes Serum lösten 1 ccm 5%ige Rinderblutkörperchensuspension vollständig. In einer Röhre, in welcher statt Kochsalz 0,10 ccm Typhusbouillon dem Hämolysin zugesetzt war, beobachteten wir vollkommene Hemmung der Hämolyse, in einer anderen mit 0,10 ccm Typhusserum eine wenn auch nicht vollkommene, so doch eine sehr ausgesprochene.

4. Nachdem so weitgehende Ähnlichkeiten zwischen Seife und Komplement festgestellt werden konnten, stellte ich mir zur Aufgabe, zu entscheiden, ob die Erscheinung der Komplementbindung bei spezifischen Reaktionen zwischen Antigenen und Antistoffen, die seit den Untersuchungen von Bordet, Gengou,

---

[1]) Centralbl. f. Bakt. 42, 353, 1906.

besonders aber von Wassermann und seinen Schülern eine so außerordentlich große Bedeutung erlangt hat, auch mit Seifealbumingemischen nachgeahmt werden kann. Meine ersten Versuche schienen dafür zu sprechen, daß dies in der Tat der Fall sei. Als Beispiel eines solchen Versuches sei der folgende angeführt.

	Tuberkulin	Maragliano	Typhus-bouillon	Typhus-serum	Seifealbumin	Ölsäure	Physiol. NaCl		5% Blut-körperchen		
1.	—	—	—	—	1,80	—	0,50	1/2 Stunde Thermostat	1,0	1/2 Stunde Thermostat	Keine Lösung
2.	—	—	—	—	—	0,10	2,30		1,0		Keine Lösung
3.	—	—	—	—	1,80	0,10	0,40		1,0		Vollständige Lösung
4.	0,10	0,10	—	—	1,80	0,10	0,20		1,0		Vollständige Hemmung
5.	0,10	—	—	—	1,80	0,10	0,30		1,0		Vollständige Lösung
6.	—	0,10	—	—	1,80	0,10	0,30		1,0		Schwache „
7.	0,10	—	—	0,20	1,80	0,10	0,10		1,0		Vollständige „
8.	—	0,10	0,20	—	1,80	0,10	0,10		1,0		Schwache „

Bei dieser Versuchsanordnung hemmten also Tuberkulin und Tuberkuloseserum die Hämolyse, wenn sie gleichzeitig zugegen waren, während weder das eine, noch das andere allein eine bedeutende Hemmung herbeiführten. Auch erschienen die übrigen Kontrollen für eine spezifische Seifenbindung zu sprechen, indem Typhusserum und Tuberkulin einerseits, Tuberkuloseserum und Typhusbouillon andererseits viel weniger hemmten als Tuberkulin und Tuberkuloseserum.

Zu genau demselben Resultate führt ein Versuch, in welchem Seifealbumin durch frisches und Ölsäure durch inaktiviertes hämolytisches Serum in entsprechenden Mengen ersetzt wird. Trotzdem kann man sich leicht davon überzeugen, daß zwischen Komplementbindung und Seifenbindung bei spezifischen Reaktionen ein sehr wesentlicher Unterschied besteht. Wie ich in zahlreichen Versuchen ermittelte, besteht dieser Unterschied darin, daß Bakterien und Bakterienextrakte mit ihnen entsprechenden Immunseren höchstens so viel Seife binden, als der Summe derjenigen Seifenmengen entspricht, welche die

Antigene allein und die Seren allein binden können, und daß folglich die Reaktion ganz ähnlich verläuft, wenn zusammengehörige oder fremde Antigene und Immunkörper gleichzeitig zugegen sind, während bei der Komplementbindung zusammengehörige Antigene und Immunkörper bedeutend mehr Komplement binden als die Summe der von ihnen einzeln gebundenen Komplementmengen.

In einem Versuche hemmte z. B. 0,05 ccm eine filtrierten Tbcbouillon die Hämolyse von mehr als 0,100 ccm 0,1 ‰ und weniger als 0,150 ‰ Seife. Maraglianos Tbcserum hemmte in einer Menge von 0,025 ccm mehr als 0,200 und weniger als 0,25 ccm 1 ‰ Seife. Waren beide gleichzeitig an der Reaktion beteiligt, so hemmten sie in gleichen Mengen weniger als 0,30 derselben Seifenlösung in ihrer hämolytischen Wirkung.

Die Ähnlichkeit zwischen Komplement und Seife reicht also nur so weit, bis es sich um nicht spezifische Adsorptionsversuche handelt. Sobald spezifische Wirkungen zwischen Antigenen und Immunkörpern im Spiele sind, tritt der Unterschied zwischen beiden klar hervor. In diesem Falle scheint das Komplement nach der Adsorption chemisch gebunden zu werden, während die Seife in jedem Falle nur einfach adsorbiert zu bleiben scheint.

Seit den grundlegenden Untersuchungen von Overton muß angenommen werden, daß die Zellen im allgemeinen durch Plasmahäute umgeben sind, die aus Stoffen bestehen, welche die Eigenschaft haben, die Oberflächenspannung stark herabzusetzen und daher sich an Oberflächen in großer Konzentration ansammeln müssen. Wie zahlreiche Versuche der letzten Jahre außer Zweifel gesetzt haben, wird die Permeabilität der Zellen von diesen Plasmahäuten bestimmt. Da das Komplement nach allem zu denjenigen Körpern gehört, welche durch Oberflächen stark adsorbiert werden, muß es an der Oberfläche von Zellen in besonders großer Konzentration vorhanden sein. Erlangen nun die mit Immunkörpern beladenen Mikroorganismen die Fähigkeit, außerordentlich viel Komplement binden zu können, so dürfte diesem Umstande eine gewisse Bedeutung im Kampfe der Zellen gegen Mikroorganismen zukommen, da

die so beladenen Mikroorganismen an den Oberflächen zu einer Erhöhung der Spannung führen müssen. Es wäre sehr leicht möglich, daß diese physikalische Veränderung, die als Folge des Zusammentreffens von Antigen und Immunkörpern an der Grenze zwischen Flüssigkeit und Zelle zustande kommt, auf diese als Reiz wirken oder die Permeabilität ihrer Plasmahaut verändern könnte.

Die schweflige Säure in biochemischer Beziehung.

Von

L. Grünhut.

(Aus dem Chem. Laboratorium Fresenius in Wiesbaden.)

Mehrere chemische und pharmakologische Experimentalarbeiten, die in den letzten Jahren über die schweflige Säure ausgeführt wurden, beanspruchen neben ihrer praktischen Bedeutung noch deshalb ein besonderes Interesse, weil sie in ganz neuer Richtung die Wichtigkeit physikalisch-chemischer Betrachtungsweise für einige Probleme der angewandten Biochemie erkennen lassen. Es sind dies die Untersuchungen, die von W. Kerp, E. Rost und einigen anderen im Kaiserlichen Gesundheitsamte über die sogenannten komplexen schwefligen Säuren angestellt wurden.[1]) Fußend auf der hierdurch gewonnenen Erkenntnis haben dann C. Jacobj und H. Walbaum[2]) es unternommen, das von den komplexen schwefligen Säuren abweichende Verhalten der wässerigen Lösungen von Schwefeldioxyd oder, wie sich ausdrücken, die Wirkungen der „freien schwefligen Säure" gegenüber denjenigen der „Schwefligsäureionen", zu studieren. So wichtig und einwandfrei nun auch die experimentellen Ergebnisse der zuletzt genannten beiden Autoren sind, so scheinen andererseits die von ihnen angeknüpften theoretischen Erwägungen und damit auch die praktischen Folgerungen in einzelnen Stücken auch eine abweichende Deutung zuzulassen. Eine erneute Diskussion dieser Ergebnisse vom Standpunkt der physikalischen Chemie erscheint

---

[1]) Arbeiten a. d. Kaiserl. Ges.-Amt **21,** 141 bis 376, 1904; **26,** 231 bis 300, 1907. — Zeitschr. f. Nahrungs- u. Genußmittel **6,** 66, 1903; **8,** 53, 1904. — Chem.-Zeitg. **31,** 1059, 1907.

[2]) Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **54,** 421, 1906. — Arch. f. Hygiene **57,** 87, 1906.

mir deshalb nützlich, und ich erlaube mir, der ich andernorts[1]) einige kleine experimentelle Beiträge zu dem in Rede stehenden Arbeitsgebiet beigesteuert habe, das Wort hierzu zu ergreifen. Um des Zusammenhanges willen schicke ich eine kurze Darlegung der gesamten, bisher gewonnenen Ergebnisse voraus.

In der älteren Literatur finden wir nur vereinzelte Arbeiten von Bernatzik und Braun, sowie von Ogata über die physiologischen Wirkungen der schwefligen Säure; eine systematische Durchforschung des Gebietes beginnt erst, als die freie Vereinigung bayerischer Vertreter der angewandten Chemie[2]) sich der Frage nach der Zulässigkeit und insbesondere der Begrenzung des Schwefelns bei der Weinbereitung zuwandte. Damals ergab sich, daß der Gehalt des geschwefelten Weines an analytisch bestimmbarer schwefliger Säure erheblich größer war als die Menge, die man auf Grund der physiologischen Versuche, die L. Pfeiffer mit Lösungen schwefligsaurer Salze angestellt hatte, für unschädlich halten konnte. Dennoch waren Weine von derartiger Beschaffenheit seit Menschengedenken hergestellt und getrunken worden, ohne daß jemals Symptome beobachtet worden wären, die auf eine Schädigung durch schweflige Säure hinwiesen. Man mußte hieraus schließen, daß die toxische Wirkung der schwefligen Säure im Weine gegenüber derjenigen in Form der wässerigen Lösung der freien Säure oder ihrer Salze erheblich herabgesetzt ist. Es war eine willkommene Bestätigung dieser Folgerung, als M. Ripper[3]) und C. Schmitt[4]) bald darauf nachweisen konnten, daß die schweflige Säure bei ihrer Einverleibung in den Wein in der Tat eine Änderung insofern erfährt, als der größte Teil derselben, soweit nicht Oxydation zu Schwefelsäure eingetreten ist, in eine komplexe Verbindung übergeführt wird. Die genannten Autoren wiesen damals bereits darauf hin, daß die zweite Komponente dieser komplexen Verbindung Acetaldehyd sein

---

[1]) Zeitschr. f. anal. Chem. **42,** 33, 1903. — Zeitschr. f. Nahrungs- u. Genußmittel **6,** 927, 1903.

[2]) Bericht über die siebente Versammlung in Speier **1888,** 7 bis 35; desgl. über die neunte Versammlung in Erlangen **1890,** 46 bis 62.

[3]) Journ. f. praktische Chem. [N. F.] **46,** 428 bis 473, 1892.

[4]) Die Weine des herzoglich nassauischen Kabinettskellers 1892, S. 34, 57, 62ff., 97.

dürfte: eine Vermutung, deren Richtigkeit dann durch Kerp in den zitierten Arbeiten exakt bestätigt wurde. Ein analoger Tatbestand ergab sich später beim geschwefelten Dörrobst; K. Farnsteiner[1]), W. Kerp[2]) sowie W. Fresenius und ich[3]) konnten gleichzeitig und unabhängig voneinander nachweisen, daß auch hier die schweflige Säure in komplexer Bindung, und zwar, wie sich herausstellte, an Glukose, vorhanden sein müsse. Endlich zeigte dann H. Schmidt[4]), daß auch in fast allen anderen Fällen, in welchen schweflige Säure Nahrungs- oder Genußmitteln einverleibt wird, also bei Bier und Braumaterialien, bei Krachmandeln und Walnüssen, Dörrgemüsen, Büchsengemüsen, eingemachtem Obst, Stärkezucker und Stärkesirup, Honig und vielleicht auch im präservierten Hackfleisch, völlig entsprechende Verhältnisse herrschen.

Die Komplexverbindungen, die in den geschwefelten Nahrungs- und Genußmitteln vorkommen, sowie nahe verwandte andere Schwefligsäure-Komplexverbindungen hat dann W. Kerp in analysenreinem Zustande dargestellt und, teilweise in Gemeinschaft mit E. Baur, näher studiert.[5]) Die zweite Komponente derselben ist immer ein Aldehyd oder ein Keton, und sie werden aus diesem glatt durch Addition von Natriumbisulfit an die Carbonylgruppe unter Aufrichtung der Sauerstoffwertigkeit erhalten. Das Reaktionsschema lautet also z. B. für Aldehyde:

$$X.CH=O + H.SO_2.ONa \rightleftarrows X.CH\begin{cases}OH\\SO_2.ONa\end{cases}$$

Die entstehenden Verbindungen wären nach der in der organischen Chemie üblichen Nomenklatur als oxysulfosaure Salze zu bezeichnen; man hat jedoch vorgezogen — und es besitzt dieser Vorschlag den Vorzug der Übersichtlichkeit — ihnen den Namen aldehyd- bzw. ketonschwefligsaure Salze zu geben, und sie im einzelnen nach den betreffenden Aldehyden

---

[1]) Zeitschr. f. Nahrungs- u. Genußmittel **5**, 1124, 1902; **7**, 449 bis 470, 1904.

[2]) Ebenda **6**, 66, 1903.

[3]) Zeitschr. f. anal. Chem. **42**, 33 bis 41, 1903.

[4]) Arbeiten a. d. Kaiserl. Ges.-Amt **21**, 226 bis 284, 1904.

[5]) Vgl. die oben zitierten Arbeiten.

und Ketonen, die in den Komplex eingetreten sind, näher zu benennen. Kerp sowie Kerp und Baur haben von solchen Verbindungen dargestellt: die Natronsalze der formaldehyd-, acetaldehyd-, chloral-, benzaldehyd-, glukose-, arabinose- und acetonschwefligen Säure.

Diese Salze erfahren in wässeriger Lösung in zweifacher Beziehung eine Zustandsänderung, indem einmal ein Teil der Komplexverbindung in die organischen Komponente und in Natriumbisulfit zerfällt und zum anderen Male sowohl der ungespaltene Anteil des Komplexes als auch der abgespaltene Anteil des Bisulfits partiell der elektrolytischen Dissoziation anheimfällt. Eine wässerige Lösung des acetaldehydschwefligsauren Natrons enthält also neben der ungespaltenen und undissoziierten Verbindung, Acetaldehyd, und undissiziiertem Natriumbisulfit, noch das Anion der acetaldehydschwefligen Säure, ferner Bisulfition und Natriumion.

Komplexzerfall und elektrolytische Dissoziation sind Gleichgewichtsreaktionen, die dem Massenwirkungsgesetz gehorchen, deren quantitativer Betrag demzufolge — wenigstens im Grenzfalle — aus Gleichungen von der Form $ab = ck$ abgeleitet werden kann und von Konstanten, Komplexzerfallkonstanten und Dissoziationskonstanten, regiert wird. Während nun die letzteren für die Lösungen der genannten Salze alle von etwa gleicher Größenordnung sind, und zwar von solcher, daß der Dissoziationsgrad ein sehr erheblicher ist, sind andererseits die Komplexzerfallkonstanten von sehr wechselnder Größenordnung. Der Komplexzerfallgrad, mithin die Konzentration der Lösung an abgespaltenem Natriumbisulfit plus Bisulfition, ist hiernach

	Komplex-zerfall-konstante k	Menge des zerfallenen Salzes in Prozenten der gesamten gelösten Menge (Komplexzerfallgrad)
Formaldehydschwefligs. Natron . .	$0{,}12 \cdot 10^{-6}$	0,097
Acetaldehydschwefligs. „ . .	$2{,}26 \cdot 10^{-6}$	0,45
Benzaldehydschwefligs. „ . .	$1{,}00 \cdot 10^{-4}$	2,98
Acetonschwefligs. „ . .	$4{,}3 \cdot 10^{-4}$	14,58
Chloralschwefligs. „ . .	$3{,}54 \cdot 10^{-2}$	44,36
Arabinoseschwefligs. „ . .	$3{,}6 \cdot 10^{-2}$	44,5
Glukoseschwefligs. „ . .	$22 \cdot 10^{-2}$	74,61

für gleichmolare Lösungen der verschiedenen Komplexsalze ein sehr verschiedener; er kann für $^{1}/_{10}$ molare wässerige Lösungen (d. h. Lösungen, die $^{1}/_{10}$ Mol Salz im Liter aufgelöst enthalten) aus vorstehender Tabelle entnommen werden:

Die letzte Spalte gibt, ich wiederhole es nochmals, ein Maß für den Anteil der gesamten schwefligen Säure, der in Form von nicht elektrolytisch dissoziiertem Natriumbisulfit, sowie in Form von Bisulfition zugegen ist, d. h. also in derselben Form, wie er auch in Lösungen des Natriumbisulfites selbst sich findet. Dieser Anteil ist unmittelbar durch Jod titrierbar und kann, da ein weiteres Fortschreiten des Komplexzerfalles nach Störung des Gleichgewichtes verhältnismäßig langsam erfolgt, durch eine solche Titrierung analytisch ermittelt werden. Man hat sich daran gewöhnt, der von Schmitt und Ripper ursprünglich gewählten Benennung folgend, diesen Anteil als „freie schweflige Säure" zu bezeichnen, im Gegensatz zu dem nicht direkt titrierbaren, noch in Komplexbindung sich befindenden, den man als „gebundene schweflige Säure" zu bezeichnen pflegt. Die Menge der sogenannten freien schwefligen Säure ist hiernach lediglich von dem Gleichgewicht abhängig, das sich zwischen dem vorhandenen Salz und dem als Lösungsmittel dienenden Wasser herausbilden muß; sie hängt also, abgesehen von der Konzentration, ceteris paribus von der Komplexzerfallkonstante, und somit von der organischen Komponente des Komplexes ab und erreicht, im Gegensatz zu den zuerst genannten, für die in der Tabelle zuletzt aufgeführten Verbindungen eine recht beträchtliche Höhe.

Die toxische Wirkung einiger der genannten Komplexsalze in reiner wässeriger Lösung ist von E. Rost und Fr. Franz[1]) im Vergleich mit äquivalenten Lösungen des Natriumsulfites, des Natriumbisulfites und zum Teil auch mit wässeriger Schwefeldioxydlösung in mannigfacher Versuchsanordnung geprüft worden. Die Versuche bestätigen für die genannten anorganischen Verbindungen die bereits bekannte Giftigkeit derselben in vollem Umfange; sie lehrten aber andererseits, daß auch die organischen Komplexsalze keineswegs unwirksam sind. Freilich kommt ihnen keine spezifische Wirkung zu; es bestehen

[1]) Arbeiten a. d. Kaiserl. Ges.-Amt 21, 304 bis 371, 1904.

keine qualitativen Unterschiede zwischen ihnen und den anorganischen Verbindungen, sie alle wirken vielmehr ihrem Wesen nach gleich, und die Differenzen sind lediglich quantitativer Art. Über diese kann u. a. die folgende Tabelle Auskunft geben:

	Tödliche Dosis		Spezifische Giftigkeit	Relative Giftigkeit
	ccm	Min.		
Formaldehydschwefligsaures Natron	44	nach 42	$5{,}41 \cdot 10^{-4}$	1
Acetaldehydschwefligsaures Natron	11	nach 25	$36{,}4 \cdot 10^{-4}$	6,7
Natriumsulfit	8	nach 17	$73{,}5 \cdot 10^{-4}$	13,6
Acetonschwefligsaures Natron . .	7-8	nach 8-11	$140 \cdot 10^{-4}$	25,9
Glukoseschwefligsaures Natron . .	4-5	nach 10-11	$212 \cdot 10^{-4}$	37,3
Natriumbisulfit	3-4	nach 6-8	$408 \cdot 10^{-4}$	75,4
Schwefeldioxydlösung	3	nach $4^1/_3$	$769 \cdot 10^{-4}$	142

Die erste Spalte dieser Tabelle enthält Angaben über die Bedingungen unter denen Kaninchen von etwa $1^1/_2$ kg Körpergewicht bei Einführung von Lösungen mit 2,96 $^0/_0$ Gesamt-SO_2 in die Blutbahn, bei einer Einlaufsgeschwindigkeit von 1 ccm pro Minute, unter typischen Erscheinungen starben. Man findet Lösungsmenge und Zeit angegeben. In der zweiten Spalte habe ich einen Ausdruck für die spezifische Giftigkeit zu bilden gesucht, indem ich den reziproken Wert des Produktes aus Menge und Zeit der ersten Spalte ermittelte, und in der dritten Spalte endlich habe ich die relative Giftigkeit berechnet, indem ich die spezifische Giftigkeit des formaldehydschwefligsauren Natrons = 1 setzte. Durch Vergleich dieser Tabelle mit der vorhergehenden auf S. 92 erkennt man, daß sich für die Giftwirkung der Komplexsalze in wässeriger Lösung dieselbe Reihenfolge ergibt wie für den Komplexzerfall, daß die Giftwirkung also parallel läuft der Menge von schwefliger Säure, die sich in Form von $NaHSO_3$ und $HSO_3^{\cdot}$ in Lösung befindet. Ganz dementsprechend ist sie weiter bei dem Natriumbisulfit, bei dem alle schweflige Säure in dieser Form zugegen ist, größer als bei irgendeinem der Komplexsalze. Die Giftwirkung der letzteren wird hiernach lediglich durch den Gehalt ihrer Lösungen an sogenannter „freier schwefliger Säure“ bedingt. An und für sich sind also die Komplexverbindungen

ungiftig; sie werden erst in wässeriger Lösung zum Gifte, und zwar um so mehr, je weiter sie zerfallen, je höher ihr Komplexzerfallgrad ist. Natriumsulfitlösung und Schwefeldioxydlösung sind, weil sie andere Ionen und andere Moleküle enthalten, als die übrigen Lösungen, nicht ohne weiteres vergleichbar.

Von den untersuchten Komplexverbindungen sind für die praktische Nahrungsmittelchemie vor allem die mit Acetaldehyd und die mit Glukose von Bedeutung. Erstere findet sich, wie bereits oben erwähnt, im geschwefelten Wein, letztere in geschwefelten Obstprodukten. Gegenüber den Bedingungen der bisher besprochenen Versuche an wässerigen Lösungen der Natriumsalze besteht bei den erwähnten Nahrungsmitteln ein zweifacher Unterschied: einmal wird in vielen Fällen neben der Komplexverbindung ein Überschuß an der organischen Komplexkomponente, Acetaldehyd bzw. Glukose, sich finden; zum anderen wird fast ausnahmslos saure Reaktion in der Flüssigkeit herrschen, d. h. wir haben es nicht mit dem Komplexsalz, sondern mit der Komplexsäure zu tun, und werden neben dieser oft noch überschüssige Wasserstoffionen finden.

Der erstere Umstand, Auftreten überschüssigen organischen Komplexbildners, muß, wie das Massenwirkungsgesetz ohne weiteres voraussehen läßt, den Komplexzerfallgrad herabdrücken, demnach die Giftwirkung vermindern. Versuche von Kerp und Baur haben diese theoretische Voraussetzung bestätigt; sie trifft für acetaldehydschwefligsaures Natron in sehr erheblichem Maße, für das glukoseschwefligsaure Salz gleichfalls deutlich, aber minder erheblich zu. Von dem Einfluß der sauren Reaktion wird weiter unten, in anderem Zusammenhange, noch die Rede sein.

Ich wende mich nunmehr zu den Arbeiten von Jacobj und Walbaum. Sie haben sich vorwiegend mit den toxischen Wirkungen der wässerigen Lösungen des Schwefeldioxyds beschäftigt und festgestellt, daß diese viel größer sind als diejenige äquivalenter Lösungen von Natriumbisulfit. Einzelgaben von 40 mg Schwefeldioxyd in 0,04 prozentiger Lösung per os brachten bei der Katze noch objektiv deutlich nachweisbare Wirkungen hervor, Gaben von 20 mg in 0,04 prozentigen Lösungen ließen am Menschen subjektives Übelbefinden er-

kennen, und 0,006 prozentige Lösungen brachten innerhalb merklicher Zeit die Flimmerbewegungen des Flimmerepithels aus dem Froschrachen zum Stillstand.

Will man versuchen, zu ergründen, auf welchen Bestandteil der Schwefeldioxydlösung die dem Natriumbisulfit gegenüber erhöhte Giftwirkung zurückzuführen ist, so kann man folgende Betrachtungen anstellen. Beim Einleiten von Schwefeldioxyd in Wasser spielen sich nacheinander bzw. nebeneinander folgende Reaktionen ab:

$$SO_2 + H_2O \rightleftarrows HSO_3' + H^{\cdot}$$
$$HSO_3' + H^{\cdot} \rightleftarrows H_2SO_3$$
$$HSO_3' \rightleftarrows SO_3'' + H^{\cdot}$$

In der wässerigen Schwefeldioxydlösung sind demnach außer Wasser folgende Stoffarten vorhanden: SO_2, $H^{\cdot}$, HSO_3', SO_3'' und H_2SO_3. Von diesen findet sich HSO_3' auch in den Bisulfitlösungen und kann deshalb nicht der Träger der besonderen Giftwirkung der Dioxydlösung sein. SO_3'' scheidet gleichfalls aus, weil es erfahrungsgemäß in der Dioxydlösung nur in verschwindender Menge sich findet. Somit bleiben nur noch SO_2, H_2SO_3 und $H^{\cdot}$ übrig. Aber auch Wasserstoffion kann im vorliegenden Falle nicht die toxischen Erscheinungen bedingen, denn zahlreiche Parallelversuche, auch von Walbaum, ergaben, daß Salzsäure von höherer Konzentration, also erheblich höherer Wasserstoffionenkonzentration, noch unschädlich war, wo Schwefeldioxydlösung schon Wirkungen erkennen ließ. Somit bleiben als Träger der Giftwirkung allein H_2SO_3 und SO_2 übrig.

Über ihre Konzentration kann man sich auf Grund folgender Überlegungen ein Bild machen. Die obenerwähnten drei Reaktionen werden durch die folgenden drei Massenwirkungsgleichungen beherrscht:

$$\frac{[SO_2]}{[HSO_3'] \cdot [H^{\cdot}]} = k_1 \qquad (1)$$

$$\frac{[HSO_3'] \cdot [H^{\cdot}]}{H_2SO_3} = k_2 \qquad (2)$$

$$\frac{[SO_3''] \cdot [H^{\cdot}]}{[HSO_3'']} = k_3 \qquad (3)$$

Die dritte Gleichung lassen wir, weil die Konzentration von SO_3'' wegen der verschwindend kleinen Größe von k_3

völlig unerheblich ist, aus dem Kreise unserer Betrachtungen. Dagegen haben wir noch eine vierte Beziehung heranzuziehen, die nicht ohne weiteres aus dem Massenwirkungsgesetz hervorgeht, die jedoch von K. Drucker[1]) sowie von Kerp und Baur[2]) unabhängig voneinander und nach verschiedenen Untersuchungsmethoden empirisch aufgefunden ist, nämlich die Beziehung:

$$\frac{[HSO_3'] \cdot [H^{\cdot}]}{[H_2SO_3] + [SO_2]} = k_4. \tag{4}$$

Durch Multiplikation der Gleichung (1) mit der Gleichung (2) findet man

$$\frac{[SO_2]}{[H_2SO]_3} = k_1 k_2 \tag{5}$$

und hieraus

$$[SO_2] = k_1 k_2 [H_2SO_3]$$

Setzt man diesen Wert in Gleichung (4) ein, so ergibt sich

$$\frac{[HSO_3'] \cdot [H^{\cdot}]}{[H_2SO_3]} = k_4 (1 + k_1 k_2).$$

Da andererseits die linke Seite dieser Gleichung nach (2) $= k_2$ ist, so ergibt sich

$$k_2 = k_4 (1 + k_1 k_2)$$

und hieraus

$$k_1 = \frac{k_2 - k_4}{k_2 k_4} \tag{6}$$

Wir können hiernach k_1 berechnen, wenn wir k_2 und k_4 kennen. k_4 entspricht den Werten für die Dissoziationskonstante, die Kerp und Baur, sowie Walden und Centnerszwer aus Gefrierpunkterniedrigungen, sowie Drucker auf Grund des Verteilungssatzes ableiteten. Alle diese Versuche lieferten in ausreichender Übereinstimmung $k_4 = 0{,}0164$. Andererseits haben Kerp und Baur aber auch Leitfähigkeitsbestimmungen an wässerigen Lösungen von Schwefeldioxyd vorgenommen und aus dem Verhältnis dieser Leitfähigkeitswerte zu dem Grenzwert bei unendlicher Verdünnung den Dissoziationsgrad und hieraus die Dissoziationskonstante berechnet. Es ist ohne weiteres klar, daß der so ermittelte Wert jener Größe entsprechen muß, die ich hier als k_2 bezeichnet habe. Dieser Wert ist $= 0{,}0174$. Aus den so gewonnenen Rechnungsgrundlagen ergibt sich mit

[1]) Zeitschr. f. physikal. Chem. 49, 581, 1904.

[2]) Arbeiten a. d. Kaiserl. Ges.-Amt 26, 297, 1907.

Hilfe der Gleichung (6) $k_1 = 3{,}5$, und ferner findet man für das Produkt $k_1 k_2$, welches nach Gleichung (5) das Maß für das unabänderliche Verhältnis $\frac{[SO_2]}{[H_2SO_3]}$ ist, den Wert 0,06.

Unsere Betrachtung lehrt also, daß die Konzentration an SO_2 immer denselben unabänderlichen Bruchteil der H_2SO_3-Konzentration betragen muß, daß das Verhältnis beider Konzentrationen unter allen Bedingungen, also bei jedem Verhältnis zwischen dem in Lösung gebrachten Schwefeldioxyd und dem Lösungsmittel, bei jedem Dissoziationsgrad der gebildeten schwefligen Säure, konstant sein muß, und zwar beträgt die SO_2-Konzentration rund 6 Prozent von der H_2SO_3-Konzentration. Ich lege hierbei einen viel größeren Wert auf das allgemeine Ergebnis und bin mir bewußt, daß das numerische Resultat wegen der, mehrere Prozent betragenden, Unsicherheit der Ausgangsgrößen der Rechnung mit erheblicher Unsicherheit behaftet ist. Doch kann in numerischer Beziehung immerhin noch so viel als sicher gelten, daß die Konzentration von SO_2 im Verhältnis zu derjenigen von H_2SO_3 klein sein muß, weil anderenfalls k_2 und k_4 voneinander erheblich abweichen müßten, was wiederum auf Grund der experimentellen Ergebnisse für ausgeschlossen gelten darf.

Stehen $[H_2SO_3]$ und $[SO_2]$ jederzeit in einem konstanten, unabänderlichen Verhältnis, so ist sonach die Summe $[H_2SO_3] + [SO_2]$, die wir leicht in bekannter Weise aus der Größe $k_4 = 0{,}0164$ berechnen können, das Maß für die besondere Giftwirkung der Schwefeldioxydlösungen. Denn wir hatten vorhin gesehen, daß diese besondere Giftwirkung nur von H_2SO_3 oder von SO_2, oder schließlich von beiden abhängen kann. Ist letzteres der Fall, dann ist die Summe das direkte Maß der spezifischen Giftwirkung; gilt jedoch eine der erstgenannten beiden Eventualitäten, dann ist die Summe der Konzentration des giftigen Bestandteiles proportional und mithin gleichfalls ein Maß der besonderen Giftigkeit.

Üben wir, mit dieser Erkenntnis ausgerüstet, Kritik an den Versuchen Walbaums, die zur Feststellung der Schwellenwerte der Giftigkeit von Schwefeldioxydlösung dienten, so ergibt sich, daß ein Teil derselben, insbesondere jener, der zur Ermittlung der subjektiven Reizschwelle am Menschen dienen

sollte, nicht völlig einwandfrei ist. Für die meisten dieser Versuche benutzte Walbaum nicht eine rein wässerige Lösung, sondern eine solche in 0,2 prozentiger Salzsäure. Er tat dies in der Absicht, eine Neutralisation der verabreichten „schwefligen Säure“ durch verschluckten Speichel zu verhindern. Bedenkt man, daß die Alkalinität des gemischten menschlichen Speichels im Durchschnitt derjenigen einer 0,04 $^0/_0$igen Sodalösung gleicht,[1]) also einer Lösung von 7,5 mg-Äquivalent im Liter, während 0,2 $^0/_0$ige Salzsäure 55 mg-Äquivalent in 1 Liter enthält, so erkennt man, daß allein zur Abstumpfung der zugesetzten Salzsäure mehr als das siebenfache Volumen der dargereichten salzsauren Schwefeldioxydlösung hätte an Speichel herabgeschluckt werden müssen. Das darf aber bei Mengen von 50 bis 100 ccm, die bei diesen Versuchen verabfolgt wurden, für ausgeschlossen gelten, und es ist hierdurch erwiesen, daß die Lösung in einem Zustande zur Wirkung kam, in dem sie sehr merkliche Mengen der stark dissoziierten Salzsäure, also sehr merkliche Mengen Wasserstoffion enthielt. Unter allen Umständen gilt die Massenwirkungsgleichung (4).

$$\frac{[HSO_3'] \cdot [H^{\cdot}]}{[H_2SO_3] + [SO_2]} = k_4,$$

und aus dieser geht hervor, daß bei Hinzufügung von Wasserstoffionen zu einer wässerigen Schwefeldioxydlösung die Konzentration $[H_2SO_3] + [SO_2]$ und mithin die spezifische Giftigkeit ansteigen muß. Setzt man $k_4 = 0{,}0164$, so ergibt sich für eine 0,04$^0/_0$ige Lösung in 0,2$^0/_0$iger Salzsäure, d. i. für Walbaums Grenzlösung für subjektiv wahrnehmbare Reizwirkungen, die Konzentration $[H_2SO_3] + [SO_2] = 0{,}0048$ Mol pro Liter. Die gleiche Konzentration würde man in rein wässeriger Lösung erst bei 0,088$^0/_0$ gelöstem Dioxyd vorfinden. Auch hier lege ich auf das rein numerische Ergebnis keinen besonderen Wert, weil die Gültigkeit von $k_4 = 0{,}0164$ für solch dünne Lösungen nicht erwiesen, ja sogar unwahrscheinlich ist; immerhin gibt die Rechnung ein Bild davon, wie sehr sich die tatsächlichen Verhältnisse durch die gewählte Versuchsanordnung verschieben konnten und verschieben mußten. Dieser Umstand erklärt zweifellos viel mehr als der Einfluß etwa verschluckten Speichels,

[1]) S. Fränkel, Deskriptive Biochemie 1907, S. 535.

warum „die Versuche, soweit die SO_2-Lösung ohne Salzsäure gegeben wurde, sehr verschiedenartig ausfielen".[1]) Bei den Versuchen mit Salzsäurezugabe wurde, wie ich gezeigt zu haben glaube, die Giftwirkung wesentlich verstärkt und damit auch verdeutlicht; aber gerade deshalb sind sie nicht ohne weiteres geeignet, ein Bild von der quantitativen Giftwirkung des gelösten Schwefeldioxyds zu gewähren.

In einem andern Teil seiner Arbeit weist Walbaum darauf hin, daß sich die Wirkung eingeführten Sulfits und Bisulfits dadurch verstärken müsse, daß durch die saure Reaktion von Körperflüssigkeiten im Organismus aus ihnen freie schweflige Säure abgespalten wird, und mit ihrer besonderen höheren Giftwirkung zur Geltung kommt. Gemeint ist hier die wirklich freie schweflige Säure, nicht jene, die man im Gegensatz zur komplexen auch als freie zu bezeichnen pflegt (vgl. S. 93). Auch hier erweisen sich die Verhältnisse nicht als so einfach, wie Walbaum voraussetzt, und bedürfen einer näheren Besprechung.

Ich beginne mit dem Verhalten des Bisulfits. Ist die zur Wirkung gelangende Wasserstoffionenmenge der sauren Körperflüssigkeiten gerade äquivalent der Kationenkonzentration des zugeführten Bisulfits, dann wird die Wirkung des letzteren nahezu derjenigen einer wässerigen Lösung von Schwefeldioxyd gleichen. Ist sie größer, dann wird aus den eben auseinandergesetzten Gründen die spezifische Giftwirkung sogar noch erhöht werden. Anders liegen die Verhältnisse, wenn die wirksame Wasserstoffionenkonzentration hinter der Kationenkonzentration der Bisulfitdosis zurückbleibt. Eine solche Flüssigkeit wird sich verhalten wie eine wässerige Schwefeldioxydlösung, die überschüssige Bisulfitionen (HSO_3') enthält. Je größer der Überschuß an Bisulfitionen ist, eine um so größere Menge von $H^{\cdot}$-Ionen wird durch dieselben, wie man sich zuweilen auszudrücken pflegt, abgefangen und um einen um so größeren Betrag wird die Konzentration $[H_2SO_3] + [SO_2]$ ansteigen müssen, damit die Massenwirkungsgleichung (4) erfüllt ist. Je größer also die auf eine gegebene Menge Wasserstoffion kommende, in Form von Bisulfit zugeführte HSO_3'-Ionenmenge ist, um so stärker

[1]) Walbaum, Arch. f. Hygiene 57, 115, 1906.

wird sich die *erhöhte* spezifische Giftwirkung der Schwefeldioxydlösung neben des Bisulfites geltend machen. Man wird durch diese Betrachtung zu dem überraschenden Schluß geführt, daß unter Umständen, d. h. bei gleicher, wirksamer, absoluter Acidität etwa des Magensaftes, bei Vermehrung der Bisulfitdosis die Giftwirkung nicht proportional der Dosis, sondern in erhöhter Progression ansteigt. Wieweit diese theoretische Abstraktion in Wirklichkeit sich bestätigt, darüber fehlt noch jede experimentelle Erfahrung.

Noch anders liegen teilweise die Verhältnisse, wenn *Sulfitlösungen* im Körper saure Reaktion antreffen. Ist freilich die Wasserstoffionenkonzentration äquivalent der halben Kationenkonzentration oder größer, dann gilt das gleiche, was soeben für die entsprechenden Eventualitäten für die Bisulfite ausgeführt wurde. Ist jedoch die wirksame Wasserstoffionenmenge kleiner als die halbe Kationenkonzentration, dann muß die $[H_2SO_3] + [SO_2]$-Konzentration praktisch immer Null bleiben, und von einer Steigerung der Giftwirkung bis zu derjenigen der wässerigen Schwefeldioxydlösungen kann nimmermehr die Rede sein. Wohl aber werden die schwächer giftigen SO_3''-Ionen teilweise in HSO_3'-Ionen übergeführt, denen ja, wie aus der Tabelle auf S. 94 hervorgeht, eine höhere Giftigkeit zukommt. So und nicht anders ist das Ergebnis eines Versuches zu deuten, den *Walbaum*[1]) beschreibt. Er gab einer Katze 250 mg SO_2 (= 7,8 mg-Äquivalent) in einer 0,5% enthaltenden Sulfitlösung; außer etwas Zittern traten keinerlei Erscheinungen auf. Erhielt das Tier dann aber nachträglich noch 50 ccm einer 0,2%igen Salzsäurelösung (= 2,7 mg-Äquivalent), so traten bald nachher Schmerzen, Würgen, Erbrechen und heftige Durchfälle auf.

Jacobj und *Walbaum* haben endlich auch die *Komplexverbindungen der schwefligen Säure* in den Kreis ihrer Betrachtung gezogen. Auch für diese sind sie zu der Anschauung gelangt, daß saure Reaktion, die sich teilweise schon in den geschwefelten und zubereiteten Nahrungsmitteln findet, teilweise durch Zusammentreffen mit sauren Körperflüssigkeiten im Organismus bedingt wird, aus ihnen Schwefel-

---

[1]) Arch. f. Hygiene 57, 135, 1906.

dioxyd in Freiheit setzen könne. Sie glauben deshalb, daß den Komplexverbindungen unter Umständen dieselbe erhöhte Giftwirkung wie den Lösungen des Schwefeldioxyds zukommen könne, und daß sie deshalb vom Standpunkte des Hygienikers mit demselben strengen Maßstab gemessen werden müßten wie diese. Diese Ansicht stützen sie auf eine Reihe von Experimenten, bei denen sie Lösungen von Komplexsalzen oder wässerige Auszüge aus geschwefelten Aprikosen, nach Zusatz von Salzsäure in starkem Überschuß, im Wasserstoffstrom bei Körpertemperatur destillierten. In der Tat gingen hierbei fast immer erhebliche Mengen, in einzelnen Fällen sogar die ganze Menge der schwefligen Säure als Schwefeldioxyd in das Destillat über.

Diese Versuche beweisen durchaus nicht das, was ihre Autoren aus ihnen schließen, denn indem die Verfasser die geringe Menge Schwefeldioxyd, die aus dem durch Komplexzerfall abgespaltenen Bisulfition sich bildet, durch Destillation fortführen, stören sie das Gleichgewicht, rufen dadurch erneuten vermehrten Komplexzerfall und damit erneute Bildung von Schwefeldioxyd hervor, das sie wiederum abdestillieren. So geht der Vorgang weiter, bis alles als Schwefeldioxyd übergegangen ist. Das abdestillierte Schwefeldioxyd ist also keinesfalls das Maß dessen, das in der angesäuerten Lösung vorhanden ist, und nicht die Versuche sind auffallend, bei denen 100 % Schwefeldioxyd im Destillat aufgefunden wurde, sondern diejenigen, bei denen diese Menge nicht erreicht wurde.

Das Verhalten der komplexschwefligsauren Salze in saurer Lösung ist durch eine große Reihe systematischer Versuche von Kerp und Baur aufgeklärt, denen sich einige wenige von A. Devarda[1]) mit gleichem Resultate anschließen. Diese Arbeiten ergeben, um es vorauszuschicken, gerade das Gegenteil dessen, was Jacobj und Walbaum voraussetzen bzw. aus den eben erwähnten Destillationsversuchen ableiten. Zwar hat sich gezeigt, daß die Hinzufügung von Wasserstoffionen zu den Lösungen der Komplexsalze, wie es theoretisch auch voraus-

[1]) Die Görzer Prünellenindustrie mit besonderer Rücksichtnahme auf das Schwefeln des Obstes. Zeitschr. f. d. landwirtschaftl. Versuchswesen in Österreich **1906**, S. 74 des Sonderabdrucks.

zusehen war, die schließlich nach Erreichung des Gleichgewichts vorhandene Menge titrierbarer schwefliger Säure, d. h. also die sog. „freie" im Sinne von Ripper und Schmitt, erhöht, und daß diese Zunahme des Komplexzerfalls sogar die entgegengesetzte Wirkung eines Überschusses der organischen Komplexkomponente (vgl. S. 93) kompensiert. Daneben hat sich aber noch das weitere Resultat ergeben, daß der Zerfall der Komplexverbindungen in saurer Lösung viel langsamer erfolgt als in neutraler. Während z. B. in einer $^{n}/_{10}$-Lösung von glukoseschwefligsaurem Natron bei 19° C das Zerfallsgleichgewicht unter Zerfall von 74,6 % der vorhandenen Verbindung nach $^{1}/_{2}$ bis 1 Stunde erreicht war, waren in einer Lösung, die neben $^{1}/_{10}$ Mol glukoseschwefligsaurem Natron noch $^{1}/_{30}$ Mol Salzsäure im Liter enthielt, bei 25° C in derselben Zeit erst 1,4 % zerfallen, und das Gleichgewicht war nach 120 Stunden noch nicht erreicht. Wasserstoffionen spielen also für den Zerfall der Schwefligsäure-Komplexverbindungen die Rolle eines negativen Katalysators. Diese Wirkung überwiegt praktisch innerhalb der Zeiträume, die wir für ein Verweilen geschwefelter Nahrungsmittel im Organismus voraussetzen dürfen, bei weitem die auf eine quantitative Vermehrung des Zerfalls abzielende, aus dem Massenwirkungsgesetz sich ergebende. Da aber die Giftwirkung der in Rede stehenden Substanzen, wie wir früher sahen, dem Betrage ihres Zerfalls entspricht, so wird dieselbe praktisch durch das Vorhandensein oder den Eintritt saurer Reaktion wesentlich vermindert werden müssen. Diesen Schluß haben auch Kerp und Baur aus ihren Untersuchungen gezogen.

Schlußfolgerungen.

1. Für die Beurteilung der spezifischen Giftwirkungen wässeriger Lösungen von Schwefeldioxyd gibt der Gehalt an $[H_2SO_3] + [SO_2]$ einen Maßstab.

2. Ein Teil der Versuche von Jacobj und Walbaum über die Giftigkeit der Schwefeldioxydlösungen ist in ihren quantitativen Ergebnissen mit Vorsicht zu deuten, weil bei ihnen mit salzsaurer Lösung gearbeitet und durch Massenwirkung der Wasserstoffionen die Giftigkeit geändert wurde.

3. Die Anschauung von Jacobj und Walbaum, daß infolge der sauren Reaktion von Körperflüssigkeiten die Komplexverbindungen der schwefligen Säure und die schwefligsauren Salze mit der erhöhten Giftigkeit der Schwefeldioxydlösung zur Wirkung gelangen müßten, ist nicht zutreffend. Die Destillationsversuche als experimentelle Grundlage dieser Anschauung sind nicht beweisend, weil bei ihnen dynamische Eingriffe in das reagierende System vorgenommen wurden, die die Gleichgewichtszustände verschoben. Andererseits muß die seitdem bekannt gewordene Eigenschaft der Wasserstoffionen, negative Katalysatoren des Komplexzerfalls zu sein, gerade das Gegenteil dessen bewirken, was Jacobj und Walbaum voraussetzen.

Beobachtungen über Farbstoffausscheidung durch die Nieren.

Von

Rudolf Höber und cand. med. Felicja Kempner.

(Aus dem physiologischen Institut der Universität Zürich.

Seit Heidenhains Studien über die Ausscheidung des indigschwefelsauren Natrons durch die Niere ist die Überzeugung von dem Wert ähnlicher Untersuchungen für die Erkenntnis der Nierenfunktion vor allem durch den Hinweis von Gurwitsch[1]) gestärkt worden, daß ungeachtet der Körperfremdheit des Farbstoffes seine Stapelung und sein Transport von seiten der Niere als ein Ausdruck von deren typischer sekretorischer Tätigkeit angesehen werden darf, weil das indigschwefelsaure Natron zu den lipoidunlöslichen Substanzen gehört, welche im allgemeinen nicht oder doch nur schwer die Zellgrenzen zu passieren vermögen, während die Nierenzellen es sich mit Leichtigkeit einverleiben. Diese besondere Importfähigkeit äußert nun die Niere, wie aus den Untersuchungen von Dreser[2]), Gurwitsch[3]), Höber und Königsberg[4]), Basler[5]) u. a. hervorgeht, auch gegenüber anderen „nicht vitalen", weil lipoidunlöslichen Farben, wie z. B. dem Säurefuchsin, Kongorot, wasserlöslichen Anilinblau und Bordeaux. Daher können auch alle diese Körper dank ihrer Gefärbtheit dazu beitragen, über Art und Ort der Abscheidung auch der normalen Harnbestandteile Aufschluß zu erteilen. So zeigt sich vor allem

[1]) Pflügers Archiv 91, 71, 1902.
[2]) Zeitschr. f. Biol. 21, 41, 1885.
[3]) l. c.
[4]) Pflügers Archiv 108, 323, 1905.
[5]) Ebenda 112, 203, 1906.

sofort, daß in der Froschniere die Zellen im sog. zweiten Abschnitt und im Anfang des dritten Abschnittes der Harnkanälchen zur Abscheidung besonders befähigt sind; denn alle die genannten nicht vitalen Farben werden an diesen Orten in Vaknolen gestapelt und dann in die entsprechenden Lumenabschnitte weiterbefördert, während die vitalen Farben, wie wir neuerdings auch wieder beim Methylviolett, Brillantcresylblau und Dahlia gesehen haben, in ganz unspezifischer Weise zufolge ihrer Lipoidlöslichkeit in die Epithelien aller Abschnitte eindringen.

Es ist nun natürlich eine der wichtigsten Fragen der Nierenphysiologie, auf welche Weise gewisse Nierenepithelien, wie eben in der Froschniere diejenigen des zweiten Abschnittes, es fertig bekommen, Substanzen wie die lipoidunlöslichen Stoffe aufzunehmen, welche den anderen Zellen, wenigstens den nicht sekretorisch tätigen, unzugänglich bzw. relativ schwer zugänglich sind. Gurwitsch machte zur Erklärung dieser Tatsache die einfache Annahme, daß den betreffenden Nierenepithelien die Lipoidhaut fehle. Höber und Königsberg[1]) haben indessen gezeigt, daß dies nicht zutrifft. Die Frage ist also noch offen.

Wir haben nun zu ihrer Entscheidung neue Untersuchungen über Ausscheidung von Farbstoffen vorgenommen, für welche wir die früher von Höber und Königsberg gemachte Beobachtung zum Ausgangspunkt wählten, nach welcher Farbstoffe, die Fröschen in den Rückenlymphsack gebracht werden, von den Nieren ganz verschieden behandelt werden; die einen werden mit Leichtigkeit von den Epithelien aufgenommen und ausgeschieden, andere deutlich langsamer, dritte gar nicht. Die Entscheidung der Frage, wovon dies abhängt, muß zur Aufklärung über das Wesen der Importfähigkeiten der Nierenepithelien beitragen.

Versuche über Farbstoffausscheidung.

Mit folgenden Farbstoffen wurden Versuche gemacht: Violettschwarz, Berliner Blau Ia, Kongorot, Indigkarmin der Firma Grübler, Indulin, Nigrosin, wasserlösliches Anilinblau,

---

[1]) l. c. Siehe auch: Höber, Physikal. Chemie der Zelle u. d. Gewebe, 2. Aufl. 1906, S. 351 ff.

Ponceau B, Anilinorange II der Firma Bender & Hobein, Säurefuchsin, Alkaliblau 3 B, indigschwefelsaures Natron, Bayrisch Blau der Firma Kahlbaum, und Benzoazurin von Bayer.

Alle diese Farben (natürlich mit Ausnahme des Berliner Blau) sind Sulfosäure-Farbstoffe und darum lipoidunlöslich.

1. Einbringung der Farbe in den Rückenlymphsack: Die Temporarien wurden ein bis vier Tage nach der Farbstoffzufuhr leben gelassen; bei mehrtägiger Versuchsdauer wurde meist täglich Farbstoff (trocken) in den Rückenlymphsack nachgefüllt. Die Nieren wurden frisch ein wenig zerzupft und in Ringerlösung untersucht.

Es ergab sich, daß gar nicht in den Epithelien zur Ausscheidung gelangten: Berliner Blau und Violettschwarz. Nur die Glomeruli zeigten sich in einigen Versuchen ein wenig gefärbt. Auch Nigrosin färbte meist nur die Glomeruli, in einem Fall schienen auch die Epithelien nach dreitägiger Zufuhr etwas Farbe aufgenommen zu haben.

Dem Nigrosin am ähnlichsten ist das Indulin. Es gelangt zwar sicher durch die Epithelien des zweiten Abschnittes zur Ausscheidung, aber nur langsam und in kleinen Mengen.

Dagegen treten mit Leichtigkeit in die Epithelien über: Säurefuchsin, Anilinblau, Kongorot, Bayrisch Blau, Indigschwefelsaures Natron, Indigkarmin, Ponceau und Anilinorange. Die ersten vier Farben sind in intensiv gefärbten Vakuolen gestapelt in den Epithelien des 2. und 3. Abschnitts sichtbar. Indigschwefelsaures Natron und Indigkarmin erscheinen reichlich meist erst nach Oxydation mit Wasserstoffperoxyd und dann oft mehr diffus als granulär. Ponceau und Anilinorange färben diffus.

Man erhält also bei Verabreichung der Farben vom Rückenlymphsack aus eine deutliche Abstufung in der Ausscheidung. Diese kann jedoch mehr als einen Grund haben. Vor allem ist daran zu denken, daß die Resorption aus dem Lymphsack mit sehr verschiedener Geschwindigkeit vor sich gehen kann, wofür verschieden große Farbrückstände dort objektive Anhaltspunkte geben. Hierauf wurde schon früher von Höber und Königsberg hingewiesen und die verschiedene Resorbierbarkeit mit verschiedener Art der Löslichkeit in Zusammenhang gebracht; Benzoazurin und Benzopurpurin, welche, wie früher

gezeigt wurde, bei Verabfolgung in den Rückenlymphsack wie Berliner Blau und Violettschwarz auch nicht in die Nieren übergehen, bilden kolloidale Lösungen, und das genügt offenbar als Grund dafür, daß sie nicht oder kaum aus dem Lymphsack in die Blutbahn übergehen. Beim Berliner Blau kann zur Erklärung seines eben beschriebenen Verhaltens ohne weiteres derselbe Grund angeführt werden, da die Suspensionsnatur der Berliner-Blau-Lösungen bekannt ist.

Um nun zunächst von den Differenzen in der Resorbierbarkeit unabhängig zu werden, war das Nächstliegende, die Farbstoffe direkt in die Blutbahn einzuführen.

2. Intravenöse Injektion der Farblösungen: 0,65 $^0/_0$ ige Kochsalzlösung wurde mit den verschiedenen genannten Farbstoffen gesättigt und von diesen Lösungen nach Filtration je nach der Größe der Temporarien 0,5 bis 2 ccm in die vena abdominalis injiziert. Die Tiere wurden danach 1 bis 2 Tage trocken gehalten, dann getötet und untersucht.

Es zeigte sich, daß auch bei dieser Art der Farbapplikation Berliner Blau und Violettschwarz nicht von den Nierenzellen aufgenommen werden. Gerade so verhalten sich aber auch noch Benzoazurin und Alkaliblau 3 B. Beim Nigrosin ist es wiederum zweifelhaft, ob neben der intensiven Färbung der Glomeruli und übrigen Capillaren auch noch eine ganz schwache diffuse Färbung der Epithelien besteht.

Indulin nimmt wieder eine Mittelstellung zwischen den nicht und den leicht abscheidbaren Farbstoffen ein; manchmal bekommt man Anfänge von Ausscheidung in die Zellen, selten auch Ausscheidung ins Lumen zu sehen, in anderen Fällen sind bloß die Gefäße gefärbt.

Prompt treten dagegen in die Epithelien über: Säurefuchsin, Anilinblau, Kongorot, Bayrisch Blau, Indigschwefelsaures Natron, Indigkarmin, Ponceau und Anilinorange, und werden auch nach der intravenösen Injektion in der schon vorher beschriebenen Weise in der Niere sichtbar.

Zu bemerken ist noch, daß die konzentrierten Lösungen von Violettschwarz und Alkaliblau 3 B, weniger von Benzoazurin, in 0,65 $^0/_0$ iger NaCl-Lösung im Vergleich zu manchen anderen der Farblösungen ziemlich hell gefärbt sind. Mit dieser ge-

ringen Färbekraft ist aber ihre Unsichtbarkeit in den Nierenzellen kaum zu erklären. Denn erstens bleiben, wie sie, auch Berliner Blau und Nigrosin unsichtbar, deren Lösungen tief gefärbt sind, zweitens erscheinen Säurefuchsin und Anilinblau auch nach Injektion verdünnter Lösungen von der Farbstärke der konzentrierten Violettschwarz- und Alkaliblau-Lösungen deutlich in den Zellen, drittens sind auch die gesättigten Lösungen von Kongorot, Anilinorange und Ponceau relativ schwach gefärbt und doch werden diese von den Nierenepithelien sichtlich aufgenommen. Die Sichtbarkeit der Farben in den Nierenzellen ist also offenbar nicht etwa bloß Funktion ihrer Löslichkeit.

Demnach kann man zunächst folgenden Schluß aus den beschriebenen Versuchen ziehen: Die untersuchten lipoidunlöslichen Farben stufen sich nach ihrem Vermögen, in die Nierenepithelien überzugehen, ungefähr in folgender Reihenfolge ab:

Berliner Blau, Violettschwarz, Benzoazurin, Alkaliblau.

Nigrosin.

Indulin.

Säurefuchsin, Anilinblau, Kongorot, Bayrisch Blau, Indigschwefelsaures Natron, Indigkarmin, Ponceau, Anilinorange.

Wie ist nun diese Abstufung zu erklären? Wovon hängt es ab, daß diese Farben, die sämtlich lipoidunlöslich sind, doch zum Teil und dann in so verschiedenem Maße von den Nierenepithelien importiert werden, zum anderen Teil nicht? Man könnte zur Erklärung die Verschiedenheit der chemischen Konstitution heranziehen, welche ja in sehr vielen Fällen für die Reaktionsfähigkeit der lebenden Substanz gegenüber dem gebotenen Körper das Maßgebende ist. Unsere Aufmerksamkeit wurde aber durch eine Untersuchung von Michaelis[1]) vor allem auf den physiko-chemischen Charakter der verschiedenen

[1]) Virchows Archiv 175, 195, 1905.

Farben gelenkt. Michaelis untersuchte, wie schon vor ihm Raehlmann[1]), Farbstofflösungen mit dem Ultramikroskop und erkannte, daß der Lichtkegel, den man durch sie hindurchwirft, je nach dem Farbstoff in sehr verschiedenem Maße in Teilchen auflösbar ist. Als leicht und völlig auflösbare Lösungen werden diejenigen von Indulin, Violettschwarz, Anilinblau und Bayrisch Blau angeführt, diese Farben bilden also Pseudolösungen. Auf diese Angaben wurden wir bald nach Beginn unserer Untersuchungen aufmerksam, und obgleich wir damals schon wußten, daß Indulin und Anilinblau in puncto Sekretion nicht in die gleiche Gruppe gehören, schien es uns doch lohnend, zumal da aus den Angaben von Michaelis nicht zu ersehen war, ob die von ihm und von uns benutzten Farbstoffmarken identisch sind, einen Vergleich zwischen dem Verhalten gegen die Nierenzellen und dem physiko-chemischen Charakter der Farblösungen durchzuführen. Über letzteren, d. h. speziell über den Grad des kolloidalen Verhaltens orientierten wir uns in dreifacher Weise.

Untersuchungen über die kolloidale Beschaffenheit der Farblösungen.

1. Die Elektrolyt-Fällbarkeit der Farbstoffe: Wenn die Sulfosäurefarbstoffe in Lösung allgemein kolloidalen Charakter haben, so sind sie nach den Versuchen von Linder und Picton[2]) voraussichtlich negative Kolloide, also durch Kationen fällbar. Als Maß der kolloidalen Beschaffenheit haben wir daher, nach dem Vorgang von Teague und Buxton[3]), die Ausfällbarkeit der Farbstoffe mit Salzen zweiwertiger Kationen gewählt. Von diesen Salzen verwendeten wir Calciumchlorid und Nickelchlorid. Die Versuche wurden so ausgeführt, daß von 0,1 $^0/_0$igen Lösungen der Farben jeweilen 2 ccm mit 2 ccm Salzlösung verschiedener Normalität versetzt wurden; die entstehenden Ausflockungen wurden nach 24 bis 48 Stunden miteinander verglichen und ihrer Quantität nach abgeschätzt. In

---

[1]) Physikal. Zeitschr. 4, 884, 1902 bis 1903.

[2]) Journ. Chem. Soc. 67, 63, 1895.

[3]) Zeitschr. f. physikal. Chem. 60, 469, 1907.

den folgenden Tabellen bedeuten Plus-Zeichen, daß und ungefähr wieviel Niederschlag sich gebildet hat, Minus-Zeichen, daß nichts ausgeflockt ist.

a) Fällung mit Calciumchlorid.

Normalität	Berliner Blau	Benzoazurin	Kongorot	Violettschwarz	Alkaliblau 3 B	Bayrisch Blau	Indulin
2	+++	+++	+++	+++	++	++	++
1	+++	+++	+++	+++	++	++	++
0,5	+++	+++	+++	+++	++	++	++
0,25	+++	+++	+++	+++	++	++	++
0,1	+++	+++	++	++	+	++	++
0,05	+++	+++	++	++	+	++	++
0,02	+++	++	++	++	+	++	++
0,01	+++	++	++	+	+	+	+
0,005	+++	+	++	+	+	+	+
0,002	++	+	+	+	+	—	—
0	—	—	—	—	—	—	—

(Fortsetzung.)

Normalität	Indigkarmin	Nigrosin	Anilinblau	Säurefuchsin	Indigschwefels. Natron	Ponceau
2	+++	++	++	+	++	++
1	++	++	++	+	++	++
0,5	++	++	++	+	+	++
0,25	++	++	++	+	+	+
0,1	++	++	++	+	—	—
0,05	+	++	+	+	—	—
0,02	+	—	—	+	—	—
0,01	—	—	—	—	—	—
0,005	—	—	—	—	—	—
0,002	—	—	—	—	—	—
0	—	—	—	—	—	—

b) Fällung mit Nickelchlorid.

Normalität	Berliner Blau	Violettschwarz	Benzoazurin	Kongorot	Indulin	Bayrisch Blau
2	+++	+++	+++	++	++	++
1	+++	+++	+++	++	++	++
0,5	+++	++	+++	++	++	++
0,25	+++	++	+++	+	++	+
0,1	+++	++	++	+	+	+
0,05	+++	++	+	+	—	—
0,02	+++	+	+	—	—	—
0,01	+++	+	—	—	—	—
0,005	++	+	—	—	—	—
0,002	—	+	—	—	—	—
0	—	—	—	—	—	—

(Fortsetzung.)

Normalität	Nigrosin	Säurefuchsin	Anilinblau	Ponceau	Indigschwefels. Natron	Indigkarmin
2	+++	+	+	+	+	?
1	+++	+	+	+	+	?
0,5	++	+	+	+	—	—
0,25	—	—	—	—	—	—
0,1	—	—	—	—	—	—
0,05	—	—	—	—	—	—
0,02	—	—	—	—	—	—
0,01	—	—	—	—	—	—
0,005	—	—	—	—	—	—
0,002	—	—	—	—	—	—
0	—	—	—	—	—	—

Anilinorange ist in die Tabellen nicht mit aufgenommen. Es fällt bei allen Ca- und Ni-Konzentrationen, aber nicht amorph, sondern kristallinisch. Dasselbe gilt für die Nickelfällung des Indigkarmins.

Überblickt man die beiden Tabellen, so sieht man, daß die Abstufung der Farbstoffe nach ihrer Fällbarkeit beide Male ziemlich die gleiche ist. Man erhält etwa folgende Reihenfolge:

Berliner Blau.
Violettschwarz, Benzoazurin, Kongorot, Alkaliblau 3 B.
Indulin, Bayrisch Blau.
Nigrosin.
Anilinblau, Säurefuchsin, Indigkarmin, Indigschwefelsaures Natron, Ponceau.

2. Die Diffusibilität der Farbstoffe: Diese wurde, ebenfalls nach dem Beispiele von Teague und Buxton, in der Weise untersucht, daß 0,1$^0/_0$ige wässerige Lösungen der Farben in Diffusionshülsen von Schleicher und Schüll gefüllt und letztere in Wasser gehängt wurden. Die Differenzen der Diffusibilität ließen sich leicht, zum Teil unter Zuhilfenahme eines Krüßschen Colorimeters, beurteilen.

Wir fanden folgende Abstufung:
Berliner Blau, Kongorot, Alkaliblau 3 B.
Bayrisch Blau, Anilinblau.
Violettschwarz.
Benzoazurin, Nigrosin.
Indulin.
Anilinorange, Ponceau, Indigcarmin, Säurefuchsin, indigschwefelsaures Natron.

Von den drei erstgenannten Farben diffundierte innerhalb 7 Tagen nicht eine Spur durch die Membran, auch von Bayrisch Blau, Anilinblau und Violettschwarz nur sehr kleine Mengen. Aus der Benzoazurin- und der Nigrosinlösung war nach 24 Stunden so viel ins äußere Wasser übergegangen, daß hier etwa $^1/_{1000}$ der ursprünglichen Farbkonzentration vorhanden war; zur selben Zeit befand sich im Außenwasser beim Indulin etwa $^1/_{300}$, beim indigschwefelsauren Natron und Säurefuchsin etwa $^1/_{60}$ bzw. $^1/_{50}$ der Ausgangskonzentration. Zwischen den letzten zwei einerseits, den vorher genannten andererseits befindet sich also ein ziemlich großer Abstand.

3. Das Aussehen der Farblösungen im Ultramikroskop.

Mit dreifach destilliertem Wasser, das nur wenige ultramikroskopische Teilchen enthielt, wurde 0,65$^0/_0$ige Kochsalzlösung hergestellt und in dieser wurden die Farbstoffe aufgelöst. Die Lösungen wurden bei verschiedenem Farbstoffgehalt und mehrfach mit einem Zeißschen Apparat untersucht.

Jede Farbe gab ein charakteristisches ultramikroskopisches Bild, das wir mit wenigen Worten zu beschreiben versuchen:

Indulin. Hellviolette Lösung.

Zahllose kleine Ultramikronen auf dunklem Grund, die meisten violett, daneben blaue, gelbe, farblose.

Nigrosin. Hellviolette Lösung von genau dem gleichen Aussehen wie die Indulinlösung.

Hellbrauner, nicht auflösbarer Lichtkegel, darin in mäßiger Anzahl kleine bewegliche Teilchen.

Bayrisch Blau. Blaßhellblaue Lösung.

Massenhaft fein staubförmige, lebhaft bewegte Teilchen in allen Farben auf dunklem Grund.

Violettschwarz. Blaurote Lösung.

Massenhaft rotgelbe bewegliche Teilchen auf dunkelblaugrauem Grunde.

Kongorot. Rosa Lösung.

Zahllose, fein staubförmige Ultramikronen, meist gelb, zum Teil rot, auf dunklem Grunde.

Säurefuchsin. Rote Lösung.

Auf grauem Grunde viele kleine orangefarbene Teilchen.

Ponceau. Kräftig gelbrote Lösung.

Mäßig viele, sehr bewegliche, gelbrote Teilchen auf dunklem Grunde.

Anilinorange. Gelblichrote Lösung.

Große goldgelbe Teilchen in recht mäßiger Zahl auf dunklem Grunde.

Berliner Blau. Hellblaue Lösung.

Unzählige violette, daneben wenige blaue und rote, ziemlich große Teilchen auf dunklem Grunde.

Anilinblau. Blaue Lösung.

Zahllose glänzend blaue, kleine Teilchen auf dunklem Grunde.

Indigcarmin. Dunkelblaue Lösung.

Mäßig viele, meist blaue und blaugrüne Teilchen auf dunklem Grunde.

Indigschwefelsaures Natron. Dunkelblaue Lösung.

Ziemlich viele, sehr kleine, blaue, bewegliche Teilchen auf dunklem Grunde.

Die Betrachtung mit dem Ultramikroskop ergab also stets eine heterogene Struktur der Lösungen. Daß die Heterogenität von zufälligen Verunreinigungen der Farben herrührt, ist wohl auszuschließen. Denn bei mehrmaliger Untersuchung erwies sich das ultramikroskopische Bild häufig als so charakteristisch für die einzelne Farbe, daß sie auf Grund des Bildes diagnostiziert werden könnte. Eine Abstufung der Farbe nach

dem Grade der Heterogenität, d. h. des kolloidalen Charakters ihrer Lösungen, erscheint recht schwierig; aber einigermaßen sicher glauben wir doch eine Einteilung treffen zu können.

Einige der untersuchten Farben zeigen nämlich, wie aus dem Gesagten hervorgeht, auch bei außerordentlich großen Verdünnungen, wenn ihre Lösungen nur noch ganz blaß gefärbt sind, noch massenhaft Ultramikronen; hierher gehören Berliner Blau, Alkaliblau 3 B, Violettschwarz, Bayrisch Blau, Anilinblau, Kongo und Indulin.

Andere Farben ergeben dagegen, selbst wenn die Lösungen kräftig gefärbt sind, nur mäßig viele und deutlich weniger Teilchen als die erstgenannten; zu diesen gehören: Ponceau, Anilinorange, Indigcarmin, indigschwefelsaures Natron und Nigrosin. Hier darf man vielleicht, wie es in entsprechenden Fällen Michaelis getan hat, annehmen, daß ein Teil der Farbe echt gelöst und nur der Rest suspendiert in der Lösung enthalten ist, daß also das Verhalten etwa dem von Eiweiß, Glykogen u. a. nach den Feststellungen und Schlüssen von Michaelis, Zsigmondy[1]), Ġatin-Ġružewska und Biltz[2]) entspricht.

Ein besonderes Aussehen haben schließlich die Lösungen von Säurefuchsin und namentlich Nigrosin. Die Nigrosinlösungen geben einen hellen, ultramikroskopisch nicht auflösbaren braunen Lichtkegel, in dem wenige glänzende Teilchen flottieren; der helle Lichtkegel rührt wohl ähnlich wie beim Fluorescein nach Siedentopf und Zsigmondy, bei Toluidinblau, Methylenblau u. a. nach Michaelis von Fluorescenzlicht her, welches von echt gelöstem Farbstoff ausgesendet wird. Einen weniger hellen, grauen Lichtkegel gibt auch Säurefuchsin, das also ebenfalls zum Teil wohl echt gelöst ist.

Nach diesem ultramikroskopischen Befund erscheint es uns einigermaßen gerechtfertigt, wenn wir die Farben in folgende zwei Gruppen von verschieden ausgeprägtem kolloidalen Charakter einteilen:

---

[1]) Zur Erkenntnis der Kolloide, Jena 1905, S. 146 ff.

[2]) Pflügers Archiv **105**, 115, 1904. Siehe auch: Raehlmann, Münch. med. Wochenschr. **1903**, Nr. 48. Much, Roemer und Siebert. Zeitschr. f. diät. u. physikal. Ther. 8, 19 u. 94, 1904.

I. Berliner Blau, Violettschwarz, Kongorot, Bayrisch Blau, Anilinblau, Alkaliblau 3 B, Indulin.

II. Anilinorange, Ponceau, Indigcarmin, indigschwefelsaures Natron, Nigrosin, Säurefuchsin.

Überblicken wir nun im Zusammenhang die Ergebnisse der dreifachen Analyse des Lösungszustandes unserer Farblösungen, so zeigt sich, daß sich

in jedem Fall als hoch kolloidal erweisen:
Berliner Blau, Kongorot, Alkaliblau 3 B, Bayrisch Blau;

fast ebenso hoch kolloidal sind wohl:
Benzoazurin und Violettschwarz.

Eine Mittelstellung nehmen Indulin und Nigrosin ein. Sie sind ziemlich fällbar und ziemlich schwer diffusibel. Nur ultramikroskopisch gehört Indulin weit mehr zu den hoch kolloidalen als Nigrosin.

Relativ wenig kolloidal verhalten sich schließlich:
Indigcarmin, indigschwefelsaures Natron, Ponceau, Säurefuchsin und Anilinorange.

Zweifelhaft ist die Stellung des Anilinblau. Seiner Fällbarkeit nach gehört es zu den wenig kolloidalen, seiner Diffusibilität nach zu den hoch kolloidalen, ebenso dem ultramikroskopischen Befund nach.

Es bleibt nun nur noch zu fragen, ob für diese Verschiedenheiten im Lösungszustand ein allgemeiner Grund angeführt werden kann, und ein solcher findet sich in der Tat leicht. Wie so oft, hängt auch hier, worauf schon von Krafft[1]) aufmerksam gemacht wurde, der kolloidale Charakter, wenigstens zum Teil, mit der Größe des Molekulargewichts zusammen. Das lehrt die folgende Tabelle, in welcher die ungefähren Molekulargewichte der meisten der von uns verwendeten Farbstoffe angegeben sind:

Man sieht, daß die wenig kolloidalen Farbstoffe am Ende der Reihe stehen.

---

[1]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 32, 1608, 1899.

Farbstoff	Mol.-Gew.
Bayrisch Blau	755
Benzoazurin	690
Kongorot	652
Anilinblau	627
Alkaliblau	609
Indulin	533
Violettschwarz	517
Ponceau	432
Säurefuchsin	429
Indigcarmin	370
Anilinorange	198

Die Abscheidbarkeit der Farbstoffe in der Niere und ihr kolloidaler Charakter.

Kehren wir nunmehr noch einmal zu der Frage nach dem Zusammenhang zwischen der Abscheidbarkeit der Farbstoffe in der Froschniere und ihren allgemeinen physikalischen oder chemischen Eigenschaften zurück, von denen aus dem früher angegebenen Grunde der Lösungszustand eingehender untersucht wurde. Der Vergleich der eben gewonnenen Abstufung in der kolloidalen Beschaffenheit der Farbstoffe in Lösung mit der physiologischen Stufenfolge auf Seite 109 lehrt dann folgendes:

Diejenigen lipoidunlöslichen Farbstoffe, welche von den Nierenepithelien nicht oder nur langsam aufgenommen werden können (Berliner Blau, Violettschwarz, Benzoazurin, Alkaliblau 3 B, — Nigrosin, Indulin), gehören alle zu den recht ausgesprochen kolloidalen. Andererseits werden alle lipoidunlöslichen wenig kolloidalen bzw. halbkolloidalen (Indigcarmin, Indigschwefelsaures Natron, Ponceau, Anilinorange, Säurefuchsin) leicht von den Zellen aufgenommen. Aber unter den leicht ausscheidbaren finden sich auch hoch kolloidale, wie Kongorot und Bayrisch Blau. — Man kann also bis jetzt den Satz vertreten: Wenn ein Farbstoff von den Nierenepithelien im 2. Abschnitt nicht aufgenommen werden kann, dann ist er hoch kolloidal. Aber man darf

den Satz nicht umkehren. Auch der Satz ist nach unseren Versuchen richtig: Wenn ein Farbstoff wenig bzw. halb kolloidal ist, so wird er von den Nierenepithelien leicht aufgenommen.

Es wird nun die weitere Aufgabe sein, welche demnächst in Angriff genommen werden soll, 1. an einer größeren Zahl von Farbstoffen die gewonnenen Sätze zu prüfen, 2. zu sehen, ob die Sätze auf andere Drüsen übertragbar sind, und 3., ob der erste der beiden Sätze nicht doch umkehrbar ist, d. h., ob nicht vielleicht doch ein hoch kolloidales Verhalten in jedem Falle den Import in die Zellen unmöglich macht und Kongorot und Bayrisch Blau nur scheinbar dem widersprechen.

Zum Schluß sei nun noch kurz auf die bisherigen Erfahrungen über die Importfähigkeit der Zellen gegenüber nicht echt, sondern kolloidal gelösten Stoffen hingewiesen!

Was zunächst die natürlich vorkommenden Kolloide anlangt, so existieren keinerlei Beweise dafür, daß diese direkt von den Zellen importiert werden können; weder für Glykogen kann man das heute beweisen, noch für die Eiweißkörper, deren Wiederaufbau aus den Spaltprodukten man bis jetzt vergebens im Tierkörper zu lokalisieren versucht hat. Was speziell das Verhalten des Eiweißes gegenüber den Nierenzellen betrifft, so ist bekannt, daß nach parenteraler Zufuhr von artfremdem Eiweiß eine kleine Menge desselben im Harn erscheint, und entsprechend den heutigen Anschauungen über die Nierentätigkeit könnte man vielleicht annehmen, daß dieses Eiweiß von den Nierenzellen aufgenommen und weiterbefördert wurde, wenn nicht einzuwenden wäre, daß nach Ascoli[1]) neben dem artfremden Eiweiß auch Eiweiß des eigenen Körpers im Harn erscheint, offenbar als Ausdruck einer Nierenschädigung durch das artfremde Eiweiß.

Über das Verhalten künstlich zugeführter, körperfremder Kolloide speziell gegenüber der Niere ist bisher folgendes bekannt: Friedenthal[2]) fand, daß nach Eingabe kolloidaler Kieselsäure per os an Kaninchen und Hunden etwas Kieselsäure im Harn erscheint; ob diese aber die Zellen passiert

---

1) Münch. med. Wochenschr. **1902**, 1, 398 u. **1903**, 1, 201.

2) Engelmanns Archiv **1902**, 150.

hat, ist nicht zu sagen. Mayer und Stodel[1]) stellten fest, daß bei Hunden einige Zeit nach der intravenösen Injektion von kolloidalem Silber in den Epithelien der Tubuli contorti und des aufsteigenden Astes der Henleschen Schleifen Silber nachweisbar ist und daß dieses nach längerer Zeit wieder aus der Niere verschwindet; aber die Untersuchung der Niere geschah nach deren Fixierung im Schnittpräparat, es ist darum unentschieden, ob das Silber in Suspensionsform in die Nierenzellen übergegangen ist, oder in gelöster. Foà und Aggazzotti[2]) fanden nach intravenöser Injektion von kolloidalem Arsentrisulfid bei Hunden Krystalle von As_2S_3 in den Nierenzellen; aber gleichzeitig waren die Zellen fettig degeneriert und oft bestand hämorrhagische Nephritis. Die Verhältnisse waren also keine normalen mehr.

Aus all dem ist zusammen mit den Ergebnissen unserer Untersuchung der Schluß zu ziehen, daß bisher keine sicheren Beweise dafür existieren, daß die Zellen der Niere und so vielleicht überhaupt die Zellen der höheren Tiere Substanzen von ausgeprägt kolloidalem Charakter zu importieren vermögen.

Zusammenfassung.

1. Injiziert man Fröschen intravenös die Lösungen verschiedener lipoidunlöslicher Farbstoffe, so findet man, daß diese zum Teil von bestimmten Zellen der Niere aufgenommen werden, zum andern Teil nicht. Leicht aufgenommen werden: Säurefuchsin, Anilinblau, Kongorot, Bayrisch Blau, Indigschwefelsaures Natron, Ponceau, Anilinorange, Indigcarmin; nicht aufgenommen werden Berliner Blau, Violettschwarz, Benzoazurin und Alkaliblau 3 B; nicht oder kaum aufgenommen wird Nigrosin, schwer aufgenommen Indulin.

2. Die Differenzen in der Ausscheidbarkeit hängen mindestens zum Teil davon ab, wie weit die Farbstoffe kolloidal gelöst sind. Alle diejenigen der untersuchten Farbstoffe, welche von den Nierenzellen nicht aufgenommen werden, sind

[1]) Compt. rend. Soc. Biol. 58, 712, 1905. — Siehe auch: Gompel und Henri ebenda 61, 488, 1906.

[2]) Giornale della R. Accad. di Torino 13, Heft 5, 1907.

hochkolloidal, wie sich aus ihrer Fällbarkeit, ihrer Diffusibilität und dem Aussehen ihrer Lösungen im Ultramikroskop ergibt. Die weniger stark kolloidalen bzw. halb kolloidalen, Indigcarmin, indigschwefelsaures Natron, Ponceau, Säurefuchsin und Anilinorange, werden leicht aufgenommen. Leicht aufgenommen werden aber auch trotz hoch kolloidaler Eigenschaften Kongorot und Bayrisch Blau. Nigrosin und Indulin nehmen wie physiologisch so auch physikochemisch eine Mittelstellung ein.

3. Es ist zweifelhaft, ob ausgesprochen kolloidale Stoffe direkt von den Zellen der höheren Tiere aufgenommen werden können.

Über die Ausscheidung von Aminosäuren während der Schwangerschaft und nach der Entbindung.

Von

E. C. van Leersum, Leiden.

Die so oft während der Schwangerschaft auftretenden und nach dem Partus meistens bald wieder verschwindenden abnormen Symptome, wie Kopfschmerz, Übelkeit, Erbrechen, Albuminurie, Glykosurie, Psychosen, Eklampsie usw. berechtigen uns zu der Vermutung, daß der Organismus während dieser Periode mehr noch als unter gewöhnlichen Verhältnissen von den giftigen Stoffwechselprodukten gefährdet ist, und daß an die Organe, deren Aufgabe es ist, die Autotoxine unschädlich zu machen und zu beseitigen, sehr hohe Forderungen gestellt werden.

Namentlich die Albuminurie hat begreiflicherweise die Aufmerksamkeit auf die Nieren gelenkt und die Erklärung der genannten Symptome auf eine Insuffizienz zurückgeführt. Es hat sich jedoch gezeigt, daß dies nicht immer zutrifft; es gibt Frauen, die sich in der Schwangerschaft sehr krank fühlen, ohne daß im Harn Eiweiß oder abnorme Formelemente angetroffen werden, und umgekehrt kommt es vor, daß Schwangere sich trotz Albuminurie des besten Wohlseins erfreuen. Den Nieren fällt im Entgiftungsprozeß wohl eine gewisse Bedeutung zu, jedoch spielen sie darin nicht die Hauptrolle. Ihre Aufgabe besteht u. a. in der Ausscheidung der Toxine, insofern diese den Destruktions- und Bindungsvorgängen in der Leber nicht anheimgefallen sind. Die Tätigkeit der Leber hat indessen ihre Grenzen. Bei der langen Dauer der Schwangerschaft und der vermehrten Tätigkeit während dieser Periode droht die Gefahr, daß dieses Organ im Kampfe gegen die Autotoxine unterliegt und die Überanstrengung kann auf die Dauer zu einer Insuffizienz und sogar zu einer Beschädigung des Parenchyms führen. Tatsächlich hat man in der Leber schwangerer

Frauen gewisse histologische Veränderungen beobachtet, nicht nur in komplizierten Fällen (foie eclamptique; Bouffe de St.-Blaise), sondern auch bei gesunden Gravidae (P. Bar, Leçons de pathologie obstétricale Paris 1900).

Wenn aber der Schwangerschaftsleber wirklich die Gefahr der Insuffizienz droht, so muß dies merkbar sein in der Weise, wie sie sich ihrer physiologischen Aufgabe erledigt.

Zu den Funktionen der Leber wird auch die Bildung von Harnstoff gerechnet. Dafür spricht der Befund, daß nach künstlicher Verkleinerung des Organes sowie bei Krankheiten des Leberparenchyms der Harnstoffgehalt des Harns abnimmt. Salaskin[1]) lieferte dafür mit Hilfe von Durchblutungsversuchen den direkten Beweis: Leucin, Glykokoll und Asparaginsäure wurden von überlebenden (Hunde-) Lebern ganz oder zum größten Teil in Harnstoff umgesetzt. In Übereinstimmung hiermit fanden K. Glaeßner[2]) und E. Friedmann[3]), daß normale, oder wenigstens nicht mit Leberkrankheiten behaftete Personen die dargereichten Aminosäuren (Alanin, Asparaginsäure, Glykokoll und Leucin) vollständig ausnützten, und daß diese Stoffe, welche als Vorstufe des Harnstoffs zu betrachten sind, bei Patienten mit degenerativen Leberprozessen dagegen größtenteils unverändert in den Harn übertraten.

Die quantitative Bestimmung der Aminosäuren im Harne wäre also als Mittel zur Beurteilung der Leberfunktion zu betrachten. Und wenn bei Schwangeren in der Tat von einer Überbürdung der Lebertätigkeit die Rede ist, so muß sich dies in einer größeren oder kleineren Anzahl von Fällen durch eine vermehrte Ausscheidung von Aminosäuren kundgeben.

Diese Betrachtung ließ es mir wünschenswert erscheinen, den Harn bei einigen Frauen vor und nach dem Partus auf ihren Aminosäurengehalt zu untersuchen.

Es gibt drei Methoden, die meines Erachtens für unseren Zweck am meisten in Betracht kommen, nämlich das Verfahren von Pfaundler-Schöndorff, das von K. Glaeßner sowie das Neuberg-Manassesche. Bevor ich zur systematischen Analyse einer Reihe von Harnen schwangerer Frauen schritt,

---

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 25, 128.

[2]) Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Therap. 4, 336, 1907.

[3]) Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 11, 151, 1908.

habe ich die genannten Methoden auf ihre Brauchbarkeit geprüft und miteinander verglichen.

Das Pfaundler-Schöndorffsche Verfahren[1]) beruht auf zwei Kennzeichen der Aminosäuren, und zwar auf ihrer festen Stickstoffbindung und ihrer Nichtfällbarkeit durch Phosphorwolframsäure.[2]) Pfaundler verfährt folgenderweise:

Er mischt eine bestimmte Menge Harn (20 ccm) mit einer Lösung von Salzsäure-Phosphorwolframsäure (40 ccm),[3]) filtriert nach 24 stündigem Stehenlassen klar ab und bestimmt — außer dem Gesamtstickstoffgehalt nach Kjeldahl — im Filtrat sowie im Niederschlag den Ammoniak- sowie den leicht abspaltbaren Stickstoff einerseits und den durch Phosphorsäure nicht abspaltbaren Stickstoff anderseits.

Wie die stickstoffhaltenden Verbindungen nach Pfaundler sich über den Niederschlag bzw. dem Filtrate verteilen, geht aus folgendem Schema hervor:

Harn + Phosphorwolframsäure

Niederschlag		Filtrat	
Fraktion n[1] leicht abspaltbarer N.	Fraktion n[2] schwer abspaltbarer N.	Fraktion f[1] leicht abspaltbarer N.	Fraktion f[2] schwer abspaltbarer N.
Gesamt-N des Ammoniaks der Carbaminsäure des Rhodans Teil des N der Harnsäure der Purinbasen des Kreatinins des Harnmucoids der Eiweißkörper bzw. des Nukleoalbumins.	Der Rest des N der bereits genannten Substanzen, welche wie Harnsäure nur einen Teil des N festgebunden enthalten. Ferner der N der Diamine der Diamidosäuren der Ptomaine.	Gesamt-N des Harnstoffs des Allantoins der Oxalursäure Teil des N der Kreatin.	N der Aminosäuren und ihrer Derivate und zwar für den norm. menschlichen Harn: das Glykokoll (Hippursäure) Taurin- und Cystusabkömmlinge und für den pathologischen menschlichen Harn: Leucin u. seine Homologen, Tyrosin und Cystin.

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 30, 75, 1900.

[2]) Pflügers Archiv 62, 1.

[3]) 100 g Phosphorwolframsäure-Merck + 100 ccm konzentrierte Salzsäure, s. G. 1,124 + 800 ccm Aqua.

Behufs Bestimmung der Fraktionen n^1 und f^1, d. h. des durch Phosphorsäure abspaltbaren Stickstoffes im Niederschlag und im Filtrat, werden diese mit 10 g krist. Phosphorsäure (bzw. Metaphosphorsäure) im Trockenschrank während 18 bis 20 Stunden auf 150° C erhitzt, dann mit Natronlauge vorsichtig annähernd neutralisiert, hierauf mit einem großen Überschusse von geglühter Magnesia bis zur deutlich alkalischen Reaktion versetzt und in eine mit entsprechender Menge $^n/_{10}$-Säure beschickte Vorlage abdestilliert. Nach beendeter Destillation wird der Kolbenrückstand behufs Bestimmung des festgebundenen Stickstoffes nach Kjeldahl zersetzt. (Fraktionen n^2 und f^2.)

Wenn es sich nur um die Bestimmung der Aminosäuren handelt, reicht eine Bestimmung des Gesamtstickstoffs im Filtrat nach Kjeldahl (also $f^2 + f^1$) und des leicht abspaltbaren Stickstoffs (f^1) aus. Die Differenz gibt den Gehalt des Aminosäurenstickstoffs.

Die Methode hat einen wichtigen Nachteil, und zwar ist es außerordentlich schwierig, die phosphorwolframsäurehaltige Flüssigkeit mittels konzentrierter Schwefelsäure zu destruieren, wie Pfaundler selbst zugibt. Er sagt, daß die Gegenwart einer größeren Menge Phosphorwolframsäure und Phosphorsäure die Zersetzung erschwert und durch Bildung von harten Beschlägen an der Kolbenwand zum Springen der Kolben Anlaß gibt. Deshalb ist man genötigt, größere Menge der zersetzenden Säure anzuwenden und die Kolben während der Zersetzung häufig zu drehen. „Meist bedarf es einer ständigen Überwachung.“ Auch bei sorgfältiger Überwachung erfuhr ich, daß die Kolben sehr häufig zerspringen, was nicht nur sehr kostspielig ist, sondern auch zum Mißlingen zahlreicher Analysen Anlaß gibt. Manchmal fand ich den Betrag $f^2 + f^1$ kleiner als f^1! Dagegen stößt die Bestimmung des leicht abspaltbaren Stickstoffes, obwohl sie mehr Zeit in Anspruch nimmt, als bei der Analyse einer größeren Reihe von Harnen wünschenswert ist, auf keine besonderen Schwierigkeiten.

Die zur Kontrolle angestellten Analysen stimmten meist bis auf ein oder zwei Milligramm.

Es fragt sich überhaupt, ob die im Harn vorhandenen Aminosäuren tatsächlich von Phosphorwolframsäure nicht nieder-

geschlagen werden, denn hiermit steht und fällt die Methode gänzlich. P. A. Levene und W. Beatty[1]) behaupten, daß die Aminosäuren von Phosphorwolframsäure nur dann quantitativ gefällt werden kann, wenn beide Lösungen in konzentrierter Form zur Verwendung kommen. Ich fand jedoch, daß das Säuregemisch auch in verdünnten wässerigen Lösungen von Aminosäuren einen stickstoffhaltigen Niederschlag liefert, z. B.:

1. 100 mg Glykokoll + 10 ccm Aq. + 40 ccm salzsaurer Phosphorwolframsäurelösung bleibt klar nach 2 × 24 Stunden.
2. 25 mg Leucin + 10 ccm Aq. + 40 ccm salzsaurer Phosphorwolframsäurelösung bleibt klar nach 2 × 24 Stunden.
3. 50 mg Leucin + 10 ccm Aq. + 40 ccm salzsaurer Phosphorwolframsäurelösung zeigt nach 24 Stunden eine Trübung, die nach weiterem Stehen zunimmt.
4. 100 mg Leucin + 10 ccm Aq. + 40 ccm salzsaurer Phosphorwolframsäurelösung zeigt nach 24 Stunden einen Niederschlag.

Ich will indessen gleich bemerken, daß die Aminosäuren in einer solchen Konzentration im Harn wohl nicht vorkommen und man also beträchtliche Verluste bei der Fällung wohl nicht zu fürchten braucht.

Die Nachteile der Pfaundlerschen Methode veranlaßten Glaeßner[2]), einen anderen Weg einzuschlagen. Sein Verfahren beruht auf der von ihm und Lippich[3]) gefundenen Tatsache, daß Harnstoff, welcher sich wie die Aminosäuren der Phosphorwolframsäurefällung entzieht, in einem Gemisch von Alkohol-Amylalkohol auflöst, während dagegen die Aminosäuren darin nicht übergehen.

Glaeßner fällt also den Harn mittels Phosphorwolframsäure-Salzsäure (nach Pfaundler), filtriert nach 24 Stunden und engt das Filtrat im luftverdünnten Raume bei 40 bis 45° C bis zur Trockne ein. Der Trockenrückstand wird, nachdem er bei 50° C im Trockenschrank gänzlich wasserfrei gemacht worden ist, mit einem Gemenge von wasserfreiem Alkohol-Amylalkohol während 6 Stunden auf dem Wasserbad extrahiert und der

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 47, 149, 1906.
[2]) Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Therap. 4, 336, 1907.
[3]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 48, 160, 1906.

Rückstand, der nur noch Aminosäuren enthält, der Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl unterzogen. Die so erhaltenen N-Werte entsprechen dem Aminosäuren-N.

Diese Methode, welche, nebenbei gesagt, nicht weniger umständlich und zeitraubend ist als die Pfaundlersche, hat auch denselben Nachteil, daß nämlich sich der Rückstand wegen des Gehaltes an Phosphorwolframsäue außerordentlich schwierig zersetzen läßt, und da die von mir ausgeführten Kontrollbestimmuugen fast niemals befriedigend waren, habe ich diese Methode verlassen.

Die direkte Bestimmung der Aminosäuren nach C. Neuberg und A. Manasse[1]) ist dem Anschein nach besonders verlockend. Sie beruht auf der Überführung der Aminosäuren in substituierte Harnstoffe. Der Harn wird, nachdem er mit Lauge stark alkalisch gemacht worden ist, mit α-Naphtylisocyanat während einiger Minuten geschüttelt und von dem unlöslichen Dinaphtylharnstoff, in den der Überschuß des α-Naphtylisocyanats sich vollständig verwandelt, abfiltriert. Das Filtrat wird angesäuert, wobei die Naphtylhydantoinsäuren z. T. quantitativ ausfallen. Man kann sich begnügen mit der einfachen Wägung des Niederschlages, aber genauer ist es, in Anbetracht des Vorhandenseins verschiedener Aminosäuren (mit ihrem ungleichen Molekulargewichte) im Harne, die Hydantoinverbindungen der Spaltung zu unterziehen und sie auf diesem Wege zu regenerieren. Das kann, wie Neuberg und Rosenberg angegeben haben, durch Kochen mit Barytwasser geschehen.

Ich verfuhr folgenderweise: Der Niederschlag samt dem Filter wurde während 6 Stunden mit Barytwasser gekocht, sodann wurde die Flüssigkeit mit Salzsäure angesäuert und das in Freiheit gesetzte α-Naphtylisocyanat durch Extraktion mittels Äther im Scheidetrichter entfernt. Der Rest wurde auf die gewöhnliche Weise nach Kjeldahl auf seinen Stickstoffgehalt untersucht. Glaeßner, der diese Methode auf Harn angewendet hat, schreibt:

„Ich habe mitunter mit dieser Methode leidliche Resultate erhalten, jedoch keineswegs konstant. Es tritt sehr häufig gar keine Reaktion ein und selbst Einengen des Harnes, Fällung desselben

---

[1]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 38, 2359, 1905.

mit Bleiessig oder Phosphorwolframsäure, ferner Entfernung des störenden Ammoniaks, war nicht imstande, die Reaktion gleichmäßig zu erzielen". Auch C. Hirschsteins[1]) Urteil lautet nicht günstig. Er machte die Erfahrung, daß Asparaginsäure mit α-Naphthylisocyanat überhaupt nicht reagiert. Von Alanin fand er 80,2 $^0/_0$ zurück. Für das Glykokoll konnte eine auch nur annähernd quantitative Fällung überhaupt nicht erzielt werden. Das Verfahren lieferte nur eine Ausbeute von 4,22 $^0/_0$. Eine von Neuberg und Manasse empfohlene Vorbehandlung des Harnes, Fällung mit Bleiessig oder Phosphorwolframsäure half ebensowenig wie vorherige Einengung. Demzufolge kommt Hirschstein zu dem Schluß, daß die Methode in der gegen wärtigen Form für die Klinik noch nicht empfohlen werden kann.

Nach Neuberg und Manasse[2]) liegt die Erklärung dieser unbefriedigenden Resultate u. a. in dem Umstand, daß Hirschstein mit 1 bis 2 promill-Lösung gearbeitet hat, während ihre Angaben sich auf 1 bis 2prozentige rein wässerige Flüssigkeiten beziehen.

Daß die Methode in der Tat sich nicht ohne weiteres auf Harn anwenden läßt, habe auch ich erfahren. Öfters sah ich in genau auf dieselbe Weise behandeltem Harn entweder gar keinen oder erst nach längerer Zeit einen Niederschlag auftreten. Die Kontrollbestimmungen zeigten öfters bedenklich große Differenzen. Z. B.:[3])

Urin A. B.	10	ccm	lieferten	keinen Niederschlag,		
	10	„	„	„ „		
Urin P. V.	10	ccm	lieferten	0,0063	g	Aminosäurenstickstoff,
	10	„	„	0,0035	„	„
			Diff.	0,0028	g.	
Urin d. F.	10	ccm	lieferten	0,0035	g	Aminosäurenstickstoff,
	10	„	„	0,0021	„	„
			Diff.	0,0014	g.	

---

[1]) Berl. klin. Wochenschr. 1906, Nr. 19, 589.

[2]) Berl. klin. Wochenschr. 1906, Nr. 22, 734.

[3]) Zu diesen Analysen verwendete ich 2 bis 2,5 ccm α-Naphthylisocyanat und verfuhr im übrigen genau nach der Neuberg-Manasseschen Methode.

Urin B. 500 ccm bis auf 50 ccm
eingeengt lieferten 0,1358 g Aminosäurenstickstoff,
500 ccm bis auf 50 ccm
eingeengt lieferten 0,0322 „ „
Diff. 0,1036 g.

Urin J. C. Gravida. Spur Eiweiß. Eiweiß entfernt. Gesamtstickstoff 0,728 %.

1. 10 ccm lieferten 0,007 g Aminosäurenstickstoff,
2. 10 „ „ 0,0076 „ „

Die von den Hydantoinverbindungen abgesaugte Flüssigkeit wurde aufs neue nach der von Neuberg-Manasse angegebenen Methode mit α-Naphthylisocyanat behandelt (2,5 ccm).

Das Filtrat von 1 enthielt noch 0,008 g Aminosäurenstickstoff,
„ „ „ 2 „ „ 0,0063 „ „

Von demselben Harn lieferten, nachdem Glykokoll (0,5 %) zugesetzt worden war:

10 ccm (+ 50 mg Glykokoll = 0,0093 N) 0,007 g Am.-N. Das Filtrat noch 0,009 g,

10 ccm (+ 50 mg Glykokoll = 0,0093 N) 0,0105 g Am.-N. Das Filtrat noch 0,0077 g.

Diese ungünstigen Resultate haben mich dazu veranlaßt, auch diese Methode aufzugeben.

Endlich lasse ich noch die Ergebnisse einiger Vergleichsanalysen der drei besprochenen Methoden folgen:

Aminosäurenstickstoff, ausgedrückt in Prozenten des Gesamtstickstoffs.

	nach Pfaundler	Glaeßner	Neuberg-Manasse
Urin d. F. (gesunder Mann)	3,35	8,5	3,4
Urin P. V. (gesunder Mann)	7,1	—	4,5
Urin B (gesunder Mann)	13,1	6,7	—
Urin Z. H. (Gravida mit Albuminurie)	18,1	10,65	—
Urin A. B. (Gravida mit norm. Harn)	9,1	13,8	—

Man wird wohl zugeben, daß diese Zahlen nicht sehr ermutigend sind; ich stand deshalb schon im Begriff, das Studium der Aminosäurenausscheidung bei Schwangeren aus Mangel an einer zuverlässigen Bestimmungsmethode aufzugeben, als mir ein Mittel in den Sinn kam, das vielleicht zur Verbesserung des Pfaundlerschen Verfahrens dienen könnte. Wie gesagt, liegt die Hauptschwierigkeit dieser Methode in den vorhandenen Phosphorwolframsalzen. Ich versuchte nun diese Salze zu entfernen, und zwar mit Hilfe von Kaliumchlorid. Wie Wörner[1]) angibt, wird Phosphorwolframsäure durch Kaliumsalze gefällt, und diese Reaktion soll so empfindlich sein, daß damit sogar ganz geringe Mengen Kalium in sehr verdünnter Lösung aufgefunden werden können. Dieses Verfahren erwies sich nun als durchaus zweckmäßig. Der im Filtrat zurückbleibende Überschuß der Phosphorwolframsäure läßt sich durch Zusatz von 10$^0/_0$ KCl-Lösung fast ganz entfernen. Und wenn man nach dem Filtrieren gehörig mit gleich starker Lösung auswäscht, findet kein Verlust an Aminosäuren statt, wovon ich mich öfters habe überzeugen können. Auf diese einfache Weise wurde somit die Hauptschwierigkeit der Pfaundlerschen Methode beseitigt, und war es mir jetzt möglich geworden, eine beträchtliche Zahl von Analysen (etwa 200) innerhalb kurzer Zeit auszuführen.

Die Resultate gebe ich in nachstehenden Tabellen.

Das von mir untersuchte Material stammt aus der geburtshilflichen Klinik meines Freundes van der Hoeven, dem ich für die freundliche Überlassung der Fälle zu großem Danke verpflichtet bin.

Die innerhalb 24 Stunden gelassenen Harnportionen wurden sorgfältigst gesammelt. Da es für viele Frauen immerhin schwierig ist, Harn und Stuhl gesondert zu lassen, ist es sehr wohl möglich, daß kleine Quantitäten verloren gegangen sind. Der Harn wurde meistens ein- oder mehreremal vor und nach dem Partus untersucht. Eiweiß und Blut wurden nach dem gewöhnlichen Verfahren entfernt. Übrigens wurde genau so verfahren, wie Pfaundler angegeben hat. Selbstverständlich wurden nur N-freie Reagenzien benutzt. Die vom Phosphor-

[1]) Ber. d. Deutsch. pharm. Ges. 1900, 4.

wolframsäure-Niederschlag abfiltrierte Flüssigkeit wurde mit 20 ccm 10%iger KCl-Lösung gemischt und wiederum abfiltriert, das Filter mit gleich starker KCl-Lösung ausgewaschen und das Filtrat in der von Pfaundler angegebenen Weise weiter verarbeitet.

Es wäre gewiß in Anbetracht des stark auseinandergehenden Aminosäurengehalts der verschiedenen Nahrungsmittel besser gewesen, in allen von mir untersuchten Fällen dieselben Speisen zu verabreichen; indessen war dies unter Umständen nicht durchführbar. Ich halte es deshalb für nicht überflüssig, mitzuteilen, daß die gewöhnliche Kost der Schwangeren in der hiesigen Klinik besteht in:

1. Frühstück: 3 Butterbrote, 1/2 l Milch und 1 Ei.
2. „ 3 Butterbrote.
Mittagsessen: 100 g Fleisch nebst Kartoffeln und Gemüse.
Abendessen: 1 Teller Mehlspeise.

Während der drei ersten Tage nach der Entbindung wird den Frauen kein Fleisch, sondern nur flüssige Nahrung verabreicht, die aus Fleischbrühe, 3 Eiern und 1 l Milch täglich besteht.

Überblickt man die in der Tabelle I angeführten Zahlen und vergleicht man sie mit den Werten der Tabelle II, welche sich auf gesunde Männer beziehen, so fällt es auf, wie im allgemeinen die Werte bei Schwangeren sowohl vor als nach der Entbindung größer sind. Selbstverständlich darf man keine erhöhte Aminosäureausscheidung in allen Fällen erwarten, da doch die Schwangerschaft immerhin als ein physiologischer Vorgang zu betrachten ist.

Die von mir bei Gesunden gefundenen Werte des Aminosäurenstickstoffs schwanken zwischen 2,7 und 7,7% des Gesamtstickstoffs. Pfaundler nimmt den Gehalt der Aminosäuren im Harn Gesunder mit 4 bis 5% des Gesamt-N an. Landau[1]) fand mit Hilfe der Pfaundlerschen Methode ca. 2,89%.

Einige der von mir untersuchten Frauen zeigten bedeutend höhere Werte. In fast 40% der Fälle betrugen sie mehr als 10% des Gesamtstickstoffs. In der Mehrzahl dieser Fälle kommen

---

[1]) Zeitschr. f. klin. Med. 79, 417.

die größten Werte vor dem Partus vor; in anderen Fällen dagegen findet man die hohen Zahlen nach der Entbindung. Inwiefern bei dieser letzten Kategorie der autolytische Zerfall des puerperalen Uterus mit im Spiele ist, wage ich nicht zu entscheiden; daß aber dieser Faktor nicht vernachlässigt werden darf, geht wohl aus denjenigen Fällen hervor, welche eine Vermehrung der Aminosäuren nach dem Partus zeigen (Nr. 6, 7, 12, 15).

In Übereinstimmung mit der im Anfang dieses Aufsatzes ausgesprochenen Hypothese ist weiter die deutliche Abnahme des Aminosäurengehaltes nach der Entbindung (Nr. 3, 5, 6, 16, 19).

Zum Schluß sei es mir gestattet, die Aufmerksamkeit auf die Tabelle III zu lenken, welche sich auf einige Fälle bezieht, in denen ich Aminosäuren verfüttert habe. Aus Glaeßners Untersuchungen geht hervor, daß bei Gesunden dargereichtes Alanin, Glykokoll und Leucin in Mengen von 20 bis 25 g glatt zu Harnstoff verbrannt werden und nicht im Harn erscheinen.

Ich studierte die Aminosäurenausscheidung nach dem Darreichen dieser Substanzen in 10 Fällen, nämlich bei 8 Schwangeren und 2 Männern. Der eine von den zuletzt erwähnten Fällen zeigte eine beträchtliche Vermehrung des Aminosäuren-N nach einer Gabe von nur 5 g Glykokoll. Im zweiten Fall war die Vermehrung nach Darreichung von 10 g Glykokoll nicht auffallend, denn am nächsten Tage war der Gehalt sogar abgenommen, und erst am dritten Tage war eine Vermehrung merkbar.

Auch bei den Schwangeren zeigten sich bedeutende Unterschiede in der Toleranz. Die Fälle 18, 19, 23 und 25 ergaben eine Abnahme des Aminosäuren-N am ersten Tage nach der Darreichung. Das bemerkte ich wegen der langen Dauer der Analyse zu spät, sonst hätte ich hier auch den Harn des dritten Tages untersucht, wodurch vielleicht für den Fall 18, welcher merkwürdigerweise eine Abnahme des Gesamtstickstoffs trotz Darreichung von 5 g Leucin zeigt, eine Erklärung gefunden wäre.

Dagegen ist in den Fällen 12, 20 (zweimal) und 24 eine deutliche Vermehrung zu konstatieren. Hier scheint also in der Tat eine Abnahme der Toleranz vorhanden gewesen zu sein.

Tabelle I.

Harn von Schwangeren. Gehalt an Aminosäuren-Stickstoff, ausgedrückt in Prozenten des Gesamt-Stickstoffes.

Nr.	Name	Alter	Partus	Harn in 24 St. ccm	Sp. G.	Reakt.	Eiweiß	9 Monat			10 Monat			kurz vor Entbind.	kurz nach Entbind.	Woche nach Entbindung			Bemerkungen
								Anfang	Mitte	Ende	Anfang	Mitte	Ende			1.	2.	3.	
1	S. Han. . .	30	I.	2640	1,016	s	—	10,9											
2	A. Bl. . . .	25	I.	1490	1,014	s	—												
				540	1,017	s	+ Spur	8,44						8,4*			9,3		* Bestimm. nach Glaeßner.
				390	1,022	amph.	—												
3	Si. Bl. . .	19	I.	2850	1,010	s	+												
				2800	1,010	s	+									9,9*	7,4	0,84	* Bestimm. nach Glaeßner.
				2180	1,012	s	+ (weniger)												
4	Z. H. . . .	41	IX.	1645	1,012	s	+					18,1		8,4					Milchdiät.
				710	1,018	s	+												
5	D. d. V. . .	25	II.	1955	1,014	s	+ Spur									5,4	0,7		
				1025	1,017	s	—												
6	D. Tim. . .	17	I.	1530	1,015	amph.	—												
				975	1,018	s	—				10,8		6,3			10,1	5,4		
				1550	1,018	s	Blut												
				875	1021	s	—												
7	J. Con. . .	18	I.	1445	1,020	s	+ $^1/_8$ p.M.*												* Bestimm. nach Essbach.
				1425	1,022	s	+ Blut						11,2		10,6		3,1	11,1	
				1650	1,019	s	—												
				1900	1,016	s	—												

8	J. Vli. . .	25	I.	1625	1,012	s	+ 1/2 p.M.										
				1550	1,010	s	+ 1/4 p.M.										
				1975	1,010	amph.	+ Blut				2,23		4,22	5,1		4,7	2,8
				2250	1,010	s	+ 1/4 p.M.										
				925	1,012	s	+ Spur										
9	C. d. Gre. .	24	I.	2100	1,013	s	+ Spur										
				910	1,019	s	+ Spur	9,2				8,4			7,7		
				710	1,013	s	+ Blut										
10	B. See. . .	27	IV.	1970	1,012	amph.	—										
				2500	1,009	s	+ Blut					5,6		6		5,3	
				1810	1,018	s	—										
11	v. A. . . .	18	I.	475	1,014	amph.	+ 1/2 p.M.										
				2200	1,012	amph.	—		11,6		5				5,9		
				1290	1,022	amph.	+ Blut										
12	Verstr. . .	21	II.	2125	1,012	s	—										
				2200	1,011	amph.	—		8,5	12,4		5,7			7,1		
				2510	1,012	amph.	—										
				950	1,022	s	+ Blut										
13	D. Jan. . .	24	I.	710	1,022	s	+ 1/8 p.M.				6,5						
14	J. Ts. . . .	19	I.	1120	1,016	s	—										
				1550	1,012	s	—			5,9		10,7			7,3		
				610	1,026	s	+ Blut										
15	R. Sta. . .	39	VIII	1080	1,015	s	+ 1 p. M.										
				3900	1,010	s	+ Blut						3,8	2,7	2,8	4,8	
				2750	1,008	amph.	+ Blut										
				1925	1,015	amph.	+ Blut										

Tabelle I (Fortsetzung).

Nr.	Name	Alter	Partus	Harn in 24 St. ccm	Sp. G.	Reakt.	Eiweiß	9 Monate			10 Monate			kurz vor	kurz nach	1.	2.	3.	Bemerkungen
								Anfang	Mitte	Ende	Anfang	Mitte	Ende	Entbind.		Woche nach Entbindung			
16	M. Ma. . .	25	II.	1425	1,012	s	+ 1 p. M.												
				2530	1,012	alk.	+ Blut						5,8			1,8	1,7		
				3150	1,009	s	—												
17	R. v. d. B.	17	I.	1490	1,010	s	—					6,5							
18	Lee. . . .	32	I.	940	1,022	s	—												
				1410	1,019	s	—					6	8,8			7,1			
				520	1,019	s	—												
19	L. Sch. . .	38	VIII	1360	1,018	s	—												
				1900	1,014	amph.	—					11	9,5				1,4	5,1	
				1160	1,015	s	—												
				2490	1,012	s	—												
20	Vog. . . .	18	I.	2955	1,008	s	—												
				1255	1,011	s	—		5,2	0,3	4,4						4,3		
				1880	1,009	s	—												
				1255	1,018	s	+ Spur												
21	Hol. . . .	22	I.	1925	1,019	s	—												
				700	1023	s	+ Spur					6,1				24	6,7		Quecksilber innerlich
				1080	1,014	s	—												
22	Hof. . . .	24	I.	980	1,022	amph.	—												
				1025	1,021	s	—				5,4	11,2				7,3			
				1920	1,009	s	—												

23	S. d. Zw. .	26	I.	1560	1,014	s	—			6			2,5					
				1560	1,011	s	—											
24	d. H. d. V.	40	II.	2775	1,008	s	+ Spur						3,5			8,6		
				1280	1,009	s	+ Blut											
25	Dib. . . .	25	I.	980	1,020	amph.	—											
				685	1,027	alk.	—			10,2		13,1					5,9	
				810	1,022	s	—											
26	Ha. . . .	30	III.	2200	1,016	s	—				7,5							Gemelli

Tabelle II.

Aminosäuren-Gehalt des Harns Gesunder. Ausgedrückt in Prozenten des Gesamt-Stickstoffes.

Nr.	Name	Harn in 24 St. ccm	Sp. G.	Reakt.	Beschaffenheit	Tot. N in Prozenten	Aminos.-N in Prozenten	Aminos.N in Proz. d. Tot. N.	Bemerkungen
1	Bus.	1350	1,019	s	Norm.	0,963	0,065	6,7	Bestimmt n. Glaeßner.
2	Bus.	2000	1,016	s	„	0,84	0,065	7,7	Bestimmt n. Pfaundler.
3	Bus.	1410	1,015	s	„	0,76	0,045	5,9	„
4	O'B.	2500	1,009	amph.	„	0,553	0,033	5,9	„
5	Joe.	1780	1,019	s	„	1,032	0,053	5,0	„
6	Verb.	1320	1,019	s	„	1,109	0,031	2,7	„
7	Verb.	1500	1,028	s	„	1,385	0,040	2,8	„
8	de F.	1240	1,019	s	„	0,88	0,030	3,4	„

Tabelle III.

Nr.	Name	Harn in 24 St. ccm	Reakt.	Sp. G.	Eiweiß	Gravid.	Proz. Tot. Stickstoff	Proz. Amin. Stickstoff	Tot. N. 24 Stunden	Aminos. N 24 Stunden	Am. N in Proz. d. Tot. N.	Bemerkung	Datum
12	Verstr.	2510	amph.	1,012	—	4 T. v. Part.	0,59	0,034	14,809	0,853	5,7	Am Ende d. Tages 5 g Glyk.	28. Febr.
		1120	amph.	1,015	—	—	0,917	0,095	10,27	1,064	10,3		29. Febr.
19	L. Sch.	1900	amph.	1,014	—	Ende 10 M.	0,735	0,072	13,965	1,368	9,5	„ „ „ „ 10 g „	1. März
		1710	amph.	1,014	—	—	0,895	0,040	15,305	0,684	4,4		2. März
20	Vog.	1225	s	1,011	—	—	0,795	0,002	9,967	0,025	0,3	„ „ „ „ 10 g „	6. März
		2560	s	1,009	—	—	0,696	0,034	17,818	0,870	4,8		7. März
		1880	s	1,009	—	—	0,68	0,03	12,784	0,564	4,4	„ „ „ „ 15 g „	11. März
		2480	s	1,010	—	—	0,693	0,063	17,186	1,562	9		12. März
		2060	s	1,010	—	—	0,64	0,045	13,184	0,927	7		13. März
18	Lee	1410	s	1,019	—	Ende 10 M.	1,106	0,098	15,595	1,382	8,8	„ „ „ „ 5 g Leuc.	6. März
		1450	s	1,018	—	—	0,994	0,038	14,413	0,551	3,7		7. März
23	S. d. Zw.	1560	s	1,014	—	—	0,952	0,058	14,851	0,905	6	„ „ „ „ 10 g Glyk.	9. März
		790	s	1,014	—	—	1,61	0,05	12,719	0,395	3,1		10. März
24	d. H. d. V.	2775	s	1,008	+ Spur	Ende 10 M.	0,655	0,023	18,176	0,638	3,5	„ „ „ „ 15 g „	11. März
		2420	s	1,009	+ „	—	0,742	0,051	17,956	1,234	6,8		12. März
		960	s	1,009	+ „	—	0,752	0,050	7,219	0,48	6,6		13. März
25	Dib.	980	amph.	1,020	—	—	1,315	0,135	12,887	1,323	10,2	„ „ „ „ 15 g „	10. März
		1780	s	1,015	—	—	0,88	0,085	15,664	1,513	9,6		11. März
—	P. Verb.	1320	s	1,019	—	Mann.	1,109	0,0305	14,639	0,403	2,7	„ „ „ „ 5 g „	26. Febr.
		1490	amph.	1,025	—	—	1,197	0,070	17,835	1,043	5,8		27. Febr.
—	Bus.	1410	s	1,015	—	Mann.	0,76	0,045	10,716	0,635	5,9	„ „ „ „ 10 g „	12. März
		1525	s	1.017	—	—	0,85	0,033	12,963	0,503	3,8		13. März
		1640	s	1,015	—	—	0,705	0,053	11,562	0,869	7,5		14. März

Über einige Ergebnisse physikalisch-chemischer Studien über den Wasserstoffwechsel.

Von

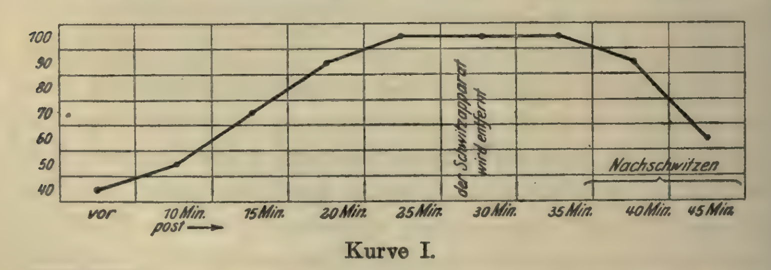
Professor Dr. H. Strauß, Berlin.

Mit 3 Figuren im Text.

Von der Einführung physikalisch-chemischer Arbeitsmethoden und Fragestellungen in die Medizin ist das Studium des Wasser- und Salzstoffwechsels in besonderem Grade gefördert worden. Diese Förderung bestand nicht bloß in den wertvollen Anregungen, welche die rein chemische Forschung auf den vorliegenden Gebieten erfuhr, sondern auch in der Feststellung von positiven Tatsachen, welche z. T. der Therapie zugute gekommen sind. Es zeigte sich auch hier, wie sehr auch rein theoretische Studien der medizinischen Praxis zugute kommen können, und es dürften vielleicht gerade deshalb hier einige Bemerkungen über den Wasserstoffwechsel im Zusammenhang mit physikalisch-chemischen Forschungen Platz finden. Hat doch der Jubilar, dem dieser Band gewidmet ist, gerade auch der medizinischen Praxis sowohl durch seine Spezialarbeiten, als auch durch seine meisterhafte Darstellung der physikalischen Chemie in der Medizin besondere Dienste geleistet.

In klinischer Beziehung haben uns die physikalisch-chemischen Forschungen über den Wasserstoffwechsel vor allem nach drei Richtungen hin eine Förderung gebracht. Sie haben uns einerseits neues Material zur Beurteilung der ausgezeichneten Fähigkeit des Organismus geliefert, den Wassergehalt des Blutserums konstant zu erhalten, andererseits unsere Kenntnisse über die Störungen der wasserabscheidenden Funktion der Nieren erheblich erweitert, und schließlich haben sie unseren Einblick in die Vorgänge vertieft, die sich bei Störungen des Wasserstoffwechsels im Körper selbst abspielen.

Das zur Beurteilung der zuerst genannten Frage dienende Material ist in dem Buche des hier zu feiernden Jubilars kritisch zusammengetragen. Auch die neueren Untersuchungen, insbesondere diejenigen, welche an Fällen von Diabetes insipidus ausgeführt worden sind, sowie die refraktometrischen, am Blutserum ausgeführten, Untersuchungen haben neue Beweise für die Richtigkeit der Anschauung geliefert, daß der Wassergehalt des Blutserums nur unter ganz besonderen Umständen einer Änderung zugänglich ist. Insbesondere haben die refraktometrischen Untersuchungen, und zwar sowohl meine eigenen[1]), als diejenigen von Engel und Scharl[2]), gezeigt, daß unter der Einwirkung einer stärkeren Flüssigkeitszufuhr nur ausnahmsweise ein nennenswertes Absinken des Refraktionswertes zu beobachten ist. Ich kann diesen Ergebnissen heute noch einige Resultate von Versuchen anfügen, die ich noch in der III. med. Klinik zusammen mit Dr. Brandenstein während eines etwa halbstündigen Schwitzversuches und nach demselben gewonnen hatte. Auch in diesen Versuchen trat nur ausnahmsweise eine Konzentrationsänderung auf, die stärker war als diejenige, welche man nach meinen Untersuchungen auch ohne speziellen Eingriff als Ausdruck physiologischer Schwankungen beobachten kann. Als Beispiele für die Art und Weise, wie sich die Mehrzahl der Versuchspersonen unter und nach einer $^1/_2$ stündigen Schwitzprozedur (Phénix à l'air chaud) verhielt, gebe ich folgende 3 Kurven, in welchen in der Abszisse die Zahlen für die Zeit und in der Ordinate die Zahlen für den Refraktionswert (nach der von mir befolgten Nomenklatur) angegeben sind. In Kurve I



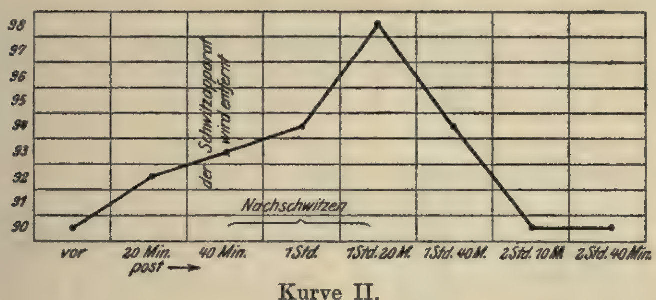
Kurve I.

---

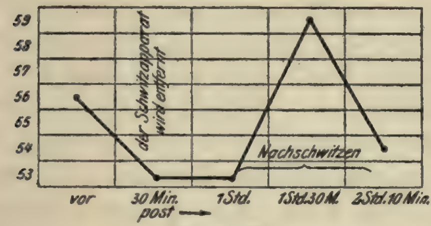
[1]) H. Strauß u. B. Chajes, Zeitschr. f. klin. Med. 52, H. 5 u. 6 und H. Strauß, ibid. 60, H. 5 u. 6.

[2]) Engel u. Scharl, Zeitschr. f. klin. Med. 60, H. 3 u. 4.

handelt es sich um eine Person, welche keine Störung des Wasserstoffwechsels zeigte, in Kurve II um einen Diabetiker und in Kurve III um einen hydraemischen Nephritiker mit Hydropsien bzw. Hydropsietendenz. Diese Beispiele verdienen auch für die Frage der „bluteindickenden" Wirkung von Schwitzkuren Beachtung.



Kurve II.



Kurve III.

Auf dem Gebiete der Pathologie habe ich bei der refraktometrischen Untersuchung des Blutserums solcher Krankheiten bzw. Zustände, bei welchen das Verhalten des Urines auf eine Störung des Wasserstoffwechsels hinwies (Diabetes insipidus,[1]) Herz- und Nierenaffektionen[2]) im Stadium der Kompensationsstörung) in Serienuntersuchungen, in welchen täglich das Verhalten der Urinmenge und des Refraktionswertes des Blutserums untersucht wurde, nur bei gewissen Formen von Nephritis (chron. parenchymatöse Form) und auch da nur in gewissen Stadien (Hydrops oder Hydropsietendenz) eine Zunahme des Wassergehaltes des Blutserums feststellen können. Soweit die physikalisch-chemischen Untersuchungen des Blutserums von Fällen von Diabetes insipidus in Frage kommen,

[1]) H. Strauß, Zeitschr. f. exp. Pathol. u. Ther. 1.

[2]) H. Strauß, Zeitschr. f. klin. Med. 60, H. 5 u. 6.

so verfügen wir außer meinen eigenen refraktometrischen Serienuntersuchungen, bei welchen sich absolut normale bzw. nahe der oberen Grenze des Normalen stehende Werte ergaben, über eine Reihe von Gefrierpunktsbestimmungen, bei welchen, wie die folgende Tabelle zeigt, gleichfalls fast durchweg normale Verhältnisse zutage traten:

Tabelle.

	Gefrierpunktserniedrigung des Blutes ohne Dürsten	nach Dürsten
Hoke[1])	0,47°	
	0,52°	
Loeper[2])	0,51°	
	0,59°	
	0,58°	nach 6 Stunden 0,61°
H. Strauß[3])	0,57°	
E. Meyer[4])	0,56°	
Seiler[5])	0,56°	4 Tage 0,58°
(8 jähriges Kind)		3 Tage 0,58°
Winkelmann[6])	0,57°	3 Tage 0,60°

Die Ergebnisse der bisherigen physikalisch-chemischen Untersuchungen des Blutserums bei Diabetes insipidus beweisen nicht nur, daß eine alte Theorie nicht richtig ist, nach welcher bei diesem Zustand eine Aufstapelung von Wasser im Körperinnern als Folge eines vermehrten Durstes stattfindet, sondern geben auch ein deutliches Zeugnis von der Zähigkeit ab, mit welcher der Organismus die Konstanz der Zusammensetzung seines Blutserums aufrechterhält. Die Befunde, welche bei Fällen von Diabetes insipidus erhoben sind, verdienen nach dieser Richtung hin weit mehr Beachtung als beispielsweise die bei Nephritikern und z. T. auch die bei Herzkranken erhobenen Befunde, weil bei diesen der Faktor der Retention von festen Bestandteilen (Reststickstoff usw.) den erhobenen Wert zu beeinflussen vermag.

---

[1]) Hoke, Münch. med. Wochenschr. 1902.

[2]) Loeper, Du mécanisme règulateur de la composition du sang. Paris 1901.

[3]) H. Strauß, l. c.

[4]) E. Meyer, l. c.

[5]) Seiler, Zeitschr. f. klin. Med. 61.

[6]) Winkelmann, Med. Klinik 1907, Nr. 34.

Auch für die Beurteilung der Vorgänge der Wasserabscheidung in den Nieren hat uns die genauere Erforschung der physikalischen Chemie des Diabetes insipidus besonders wertvolles Material geliefert. Vor allem sind hier Erich Meyers[1]) Untersuchungen zu nennen, der gezeigt hat, daß die Polyurie in den betr. Fällen im wahrsten Sinne des Wortes eine Polyhydrurie ist, und daß sie einen kompensatorischen Zweck erfüllt, indem sie zur Ausschwemmung von Salzen und Schlacken des N-Stoffwechsels dient, die durch die aktive Eliminationskraft der Nieren nicht nach außen befördert werden können. Die Polyurie gleicht die mangelnde Akkommodationsfähigkeit des Nierenepithels an die quantitativ wechselnden Aufgaben aus und dient den Zwecken der Blutreinigung. Durch die Untersuchungen von E. Meyer, welchen sich meine eigenen Beobachtungen (l. c.) sowie Befunde von Finkelnburg[2]), Seiler (l. c.) und Winkelmann (l. c.) anschließen, ist der Diabetes insipidus den Fällen von chronisch-interstitieller Nephritis mit Polyurie bzw. Polyhydrurie nahe gerückt, und es besteht zwischen beiden Gruppen nur insofern ein Unterschied, als der Antrieb der Polyurie beim Diabetes insipidus nicht auf dem Umwege des Herzens erfolgt, wie dies bei den Fällen von chronisch-interstitieller Nephritis meistens — wenn auch nicht immer — der Fall ist, sondern direkt durch die Nieren. Die am Urine bei Fällen von Diabetes insipidus ausgeführten physikalisch chemischen Untersuchungen sind vor allem auch insofern wichtig geworden, als sie einerseits in besonderem Grade gezeigt haben, daß eine auf rein physikalisch chemischer Grundlage aufgebaute Theorie der Harnabscheidung heutzutage nicht mehr möglich ist, andererseits für die Behandlung dieser Krankheit wertvolle Direktiven geliefert haben. Sie haben nämlich gezeigt, daß auf die Beschränkung der Salz- und — wenn auch in geringerem Grade — der Eiweißzufuhr der Schwerpunkt zu legen ist und daß eine Einschränkung der Flüssigkeitszufuhr bei Fällen von Diabetes insipidus nicht ohne weiteres zulässig ist. Wie stark zuweilen die Energie der Nieren bei der Abscheidung der für kompensatorische Zwecke nötigen großen

---

[1]) Erich Meyer, Arch. f. klin. Med. 82.

[2]) Finkelnburg, Arch. f. klin. Med. 91.

Flüssigkeitsmengen sein kann, zeigte in besonders deutlichem Grade der von mir seinerzeit beschriebene Fall (l. c.), in welchem die Sekretionsenergie so groß war, daß eine ganz enorme Ausdehnung der Blase hierdurch erzeugt worden war.

Nicht so durchsichtig wie beim Diabetes insipidus lag bisher bei Nierenerkrankungen die Frage der Bedeutung der Polyurie. Durch die grundlegenden Untersuchungen von A. von Korányi wurde festgestellt, daß bei einer Reihe von Nierenerkrankungen, so speziell bei Schrumpfnieren, die Nieren die Fähigkeit verloren haben, einen konzentrierten Harn abzuscheiden, dagegen wurde es nicht von allen Seiten anerkannt, daß auch hier die Polyurie bzw. die Polyhydrurie kompensatorischen Zwecken im Sinne der Blutreinigung diene. In neuerer Zeit sind jedoch zur Stütze auch für diese Auffassung, für welche ich von Anfang an eingetreten bin, wertvolle Untersuchungen von Ekehorn[1]) mitgeteilt worden, der zeigen konnte, daß 2- bis 3tägiges Dürsten bei Gesunden nicht zu einer Erhöhung des osmotischen Druckes des Blutes führt, wenn parallel mit dem Sinken der Urinmenge das spezifische Gewicht des Urines in entsprechender Weise ansteigt, daß aber bei Nierenkranken mit Polyhydrurie unter den gleichen Bedingungen ein Ansteigen des osmotischen Druckes des Blutes zu finden ist, wenn die Urinmenge sinkt und das spezifische Gewicht des Urines dabei nicht in entsprechender Weise ansteigt. Es ist ohne weiteres einleuchtend, daß das Prinzipielle der Betrachtungsweise auch auf dem vorliegenden Gebiete für die therapeutische Frage der Wasserdarreichung von größter Bedeutung ist, so daß auch hier die Förderung einer a priori theoretischen Frage Früchte für das praktische Handeln gezeitigt hat. Daß die Polyhydrurie auch bei Nierenkranken nicht immer den Umweg über das Herz nehmen muß, haben uns spezielle Befunde gezeigt. Es ist nicht bloß beim Ureterenkatheterismus wiederholt eine einseitige (reflektorische) Polyhydrurie beobachtet (Steyrer[2]), Kapsammer[3]) u. a.) worden, sondern es haben auch Steyrer-Pfaundler[4]) u. a. gezeigt, daß auch eine ein-

[1]) Ekehorn, Arch. f. klin. Chir. 79, 1906.
[2]) Steyrer, Zeitschr. f. klin. Med. 55, 1904.
[3]) Kapsammer, Wiener klin. Wochenschr. 1904.
[4]) Steyrer-Pfaundler, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 2, H. 7 bis 9.

seitig ausgeführte Steigerung des Druckes im Innern des Ureters bzw. Nierenbeckens die gleiche Folge haben kann. Die bei Prostatahypertrophie zuweilen zu beobachtende Polyhydrurie dürfte wohl ähnlich zu erklären sein. Auch die Polyhydrurie bei Pyelitis dürfte, wie ich schon früher ausführte,[1]) in dieses Kapitel gehören.

Es ist hier nicht der Ort breit zu erörtern, welchen Nutzen die hier besprochenen Feststellungen der Therapie gebracht haben, sondern es soll hier nur noch angedeutet werden, inwiefern die physikalisch-chemischen Studien unseren Einblick in die feineren Vorgänge bei Wasserretentionen vertieft haben. Neuere — speziell refraktometrische — Untersuchungen haben hier prinzipielle Unterschiede in den Folgen der kardiogenen und der nephrogenen Wasserretionen nachgewiesen und gezeigt, daß bei kardiogenen Wasserretentionen das Wasser in erster Linie in den Geweben bzw. in den Gewebsspalten zurückgehalten wird, während bei den nephrogenen Wasserretentionen der Hydrops sanguinis bzw. die Wasserzurückhaltung in den Säften selbst eine weit größere Rolle spielt. Diese Feststellung ist nicht bloß für einige Probleme der allgemeinen Pathologie, sondern auch der Klinik von Bedeutung geworden und läßt erkennen, daß auch auf diesem Gebiete der Klinik aus den physikalisch-chemischen Forschungen der letzten 10 Jahre eine Förderung erwachsen ist. Das ist aus dem Grunde besonders erfreulich, weil die rege Arbeit, welche sich in den letzten drei Dezennien auf dem Gebiete der Stoffwechselforschung bemerkbar gemacht hat, die Störungen des Wasserhaushaltes anfänglich nicht in dem Maße berücksichtigt hatte, wie die Störungen im Wechsel der anderen den Körper zusammensetzenden Stoffe.

---

[1]) H. Strauß, Zeitschr. f. klin. Med. 47.

Über den Unterschied zwischen isosmotischen und isotonischen Lösungen bei der künstlichen Parthenogenese.

Von

Jacques Loeb.

(From the Herzstein Research Laboratory of the University of California.)

I. Einleitung.

Vor drei Jahren veröffentlichte ich eine Methode der künstlichen Parthenogenese, welche es erlaubt, die Vorgänge der Samenbefruchtung des Seeigeleis bis in alle Einzelheiten nachzuahmen.[1] Diese Methode besteht darin, daß man zuerst die Eier mit einer Mischung von Seewasser und einer einbasischen Fettsäure behandelt; es genügt beispielsweise die unbefruchteten Eier von Strongylocentrotus purpuratus etwa 2 Minuten bei 15° C in 50 ccm Seewasser + 3 ccm $^{n}/_{10}$-Buttersäure zu bringen. Wenn die Eier darauf in normales Seewasser übertragen werden, so bilden sie alle die typische Befruchtungsmembran, welche auch nach dem Eindringen eines Spermatozoons im Ei entsteht. Diese Membranbildung kann als die eigentliche Entwicklungserregung angesehen werden, und bei den Eiern mancher Formen ist auch nichts weiter für die Entwicklungserregung nötig, z. B. bei dem Ei eines Seesterns Asterina in Pacific Grove und dem Ei eines Wurmes, Polynoe. Auch bei den unbefruchteten Eiern des Seeigels genügt die künstliche Hervorrufung des Membranbildungsprozesses durch Buttersäurebehandlung, um die Entwicklung in den Gang zu setzen; es kommt zur normalen Astrosphären- und Spindelbildung in jedem Ei und bei niedriger Temperatur auch zu

[1]) J. Loeb, Untersuchungen über künstliche Parthenogenese. Leipzig 1906, S. 329. Vorlesungen über die Dynamik der Lebenserscheinungen. Leipzig 1906, S. 243.

einer Reihe von Zellteilungen, ev. sogar zur Bildung von Larven, die umherschwimmen; aber die Entwicklung geht nicht über das Blastulastadium.[1] Bei Zimmertemperatur dagegen fangen die Eier alsbald an zu zerfallen, und zwar um so rascher, je höher die Temperatur ist.

Über die Ursache des Zerfalls war es möglich, einige bestimmte Daten zu erlangen. Verhinderte man die Oxydationen im Ei durch Sauerstoffentziehung oder durch Zusatz von KCN, welches die Oxydationen hemmt, so trat der Zerfall des Eies nicht ein. Wenn man solche Eier, bei denen man die Entwicklung und den Zerfall durch die erwähnten Mittel eine Reihe von Stunden lang hemmt hinterher in normales Seewasser bringt, so findet man, daß sich nunmehr ein gewisser Prozentsatz derselben in völlig normaler Weise bei Zimmertemperatur zu entwickeln vermag, und zwar nicht nur zu Blastulen, sondern zu Gastrulen und Pluteen[2] (und wohl auch darüber hinaus, wenn man sich die Mühe des Aufzüchtens nehmen wollte). Man gewinnt im Zusammenhang mit diesen Beobachtungen den Eindruck, daß im Ei durch die Buttersäurebehandlung resp. Membranbildung zwar die Entwicklung eingeleitet wird, daß aber die Entwicklung in falschen Bahnen verläuft. Wird aber die Entwicklung im Ei nach der Membranbildung einige Stunden lang durch vollständige Sauerstoffentziehung oder durch Zusatz von KCN oder Chloralhydrat gehemmt, so werden im Ei Stoffe gebildet, welche ihm erlauben, sich normal zu entwickeln, sobald es wieder in normales Seewasser zurückgebracht wird. Man kann auf diese Weise 2 bis 10 % der Eier zur normalen Entwicklung zu Pluteen zwingen.

Was nun durch die Entwicklungshemmung im Ei im Laufe von 3 bis 8 Stunden erreicht wird kann in viel rascherer Weise erzielt werden, wenn man die Eier nach der künstlichen Membranbildung etwa 40 bis 60 Minuten lang in hypertonisches Seewasser bringt. Diese Methode hat auch noch den Vorteil, daß bei ihr alle Eier — bei richtiger Wahl der Expositionsdauer — zur Entwicklung zu normalen Pluteen gebracht werden können. Wir müssen nun die Frage aufwerfen, wie wirkt

[1] J. Loeb, Untersuchungen über künstl. Parthenogenese, S. 490.

[2] J. Loeb, Untersuchungen über künstl. Parthenogenese, S. 483 u. ff.

die hypertonische Lösung in diesem Falle auf das Ei? Im Anschluß an das eben Gesagte muß wohl die Antwort lauten, daß in Folge des Wasserverlustes, welchen das Ei in der hypertonischen Lösung erleidet, die chemischen Prozesse in demselben modifiziert werden und daß die hierdurch herbeigeführten chemischen Änderungen dem Ei nunmehr erlauben, sich auch bei Zimmertemperatur normal zu entwickeln.

Die Ansicht, daß die hypertonische Lösung durch Herbeiführung einer chemischen Änderung im Ei die Entwicklung desselben beeinflußt, wird durch folgende Daten unterstützt. Erstens fand ich, daß der Temperaturkoeffizient für die Wirksamkeit der hypertonischen Lösung ungemein hoch ist, nämlich 3 bis 5 für eine Temperaturzunahme von 10° C.[1]) Zweitens ließ sich feststellen, daß die hypertonische Lösung nur dann die günstige Wirkung hat, wenn dieselbe freien Sauerstoff, enthält.[2]) Entzieht man derselben allen freien Sauerstoff, so bleibt dieselbe völlig wirkungslos, und die Eier zerfallen nach der Übertragung in normales Seewasser ebenso, als ob sie überhaupt nicht mit hypertonischem Seewasser behandelt worden wären. Drittens ließ sich zeigen, daß mit der Konzentration der Hydroxylionen in der hypertonischen Lösung die Geschwindigkeit der Wirkung der hypertonischen Lösung zunimmt.[3]) In einer schwachsauren hypertonischen Lösung müssen die Eier länger bleiben als in einer neutralen und in dieser länger als in einer alkalischen, um alle Eier zur Entwicklung zu bringen.

Es schien nun nötig, auch noch zu untersuchen, wie die Zeit, während welcher die Eier in der hypertonischen Lösung bleiben müssen, mit dem osmotischen Druck der hypertonischen Lösung variiert.

II. Versuche mit hypertonischem Seewasser.

Die unbefruchteten Eier eines Seeigels wurden mit buttersäurehaltigem Seewasser behandelt, und bei allen trat die Membranbildung ein. Zu je 50 ccm Seewasser wurden 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 10, 12 und 14 ccm $2^1/_2$ m (grammolekulares)

---

[1]) J. Loeb, Untersuchungen, S. 494.

[2]) J. Loeb, Untersuchungen S. 491. Diese Zeitschr. 1, 183, 1906. Pflügers Archiv 113, 487, 1906 u. 118, 30, 1907.

[3]) J. Loeb, Pflügers Archiv 118, 181, 1907.

NaCl zugefügt und die Eier in diese Lösungen verteilt. Aus diesen Lösungen wurde nach 33, 45, 57, 68, 98 und 128 Minuten je eine Portion der Eier in normales Seewasser übertragen und der Prozentsatz derselben, welcher sich zu Larven entwickelte, für jede Portion festgestellt. Die folgende Tabelle gibt das Resultat. 0 bedeutet, daß kein Ei sich entwickelte, 30%, daß 30% aller Eier Larven bildeten. Die Temperatur der hypertonischen Lösung war 16° C.

Tabelle I.

Natur der Lösung	Prozentsatz der Eier, welche sich zu Larven entwickelten, nach einem Aufenthalt in der Lösung von 33	45	57	68	98	128 Min.
50 ccm Seewasser	0	0	0	0	0	0
50 „ „ + 4 ccm $2^1/_2$ m NaCl	0	0	0	0	0	1 Larve
50 „ „ + 5 „ $2^1/_2$ „ „	0	0	0	1%	30%	60%
50 „ „ + 6 „ $2^1/_2$ „ „	0	0	2%	50%	100%	10%
50 „ „ + 7 „ $2^1/_2$ „ „	0	1%	30%	70%	70%	0
50 „ „ + 8 „ $2^1/_2$ „ „	0	1%	50%	80%	Wenige	0
50 „ „ + 10 „ $2^1/_2$ „ „	0	0	10%	10%	1%	0
50 „ „ + 12 „ $2^1/_2$ „ „	0	0	1 Larve	0	0	0
50 „ „ + 14 „ $2^1/_2$ „ „	0	0	0	0	0	0

Zwei Tatsachen sind hier zu beachten; erstens, daß die Wirksamkeit der hypertonischen Lösung enge Grenzen hat. Der Zusatz von 4 ccm ist praktisch zu gering, der Zusatz von 12 ccm $2^1/_2$ m NaCl ist zuviel. Im letzteren Falle gehen die Eier an schwarzer Cytolyse zugrunde. Zweitens ist zu beachten, daß, wenn einmal die optimale Konzentration erreicht ist, d. h. die Konzentration, welche den größten Prozentsatz von Larven hervorbringt, nämlich bei 7 ccm $2^1/_2$ m NaCl, eine weitere Konzentrationserhöhung die Zeit, während welcher das Ei in der hypertonischen Lösung bleiben muß, nicht abkürzt. Das harmoniert mit der früher von mir ausgesprochenen Vermutung, daß der Aufenthalt des Eies in der hypertonischen Lösung nur deshalb nötig ist, weil in dieser Lösung bestimmte Stoffe im Ei gebildet werden, welche die Entwicklung des Eies in normale Bahnen lenken und es vor dem Verfall retten, zu dem die künstliche Membranbildung es sonst führt. Um diese Stoffe in genügender Menge zu bilden, ist eine gewisse Zeit erforderlich.

Dieser Versuch ist sehr oft mit im wesentlichen gleichen Resultat wiederholt worden. Der Zusatz von nur 3 ccm $2^1/_2$ m NaCl zu 50 ccm Seewasser hat nie zur Entwicklung einer Larve nach der Membranbildung geführt, wie lange man auch die Eier in der Lösung ließ.

Es scheint nötig, ein Beispiel eines derartigen länger dauernden Versuches mitzuteilen. Die unbefruchteten Eier eines Weibchens wurden nach der künstlichen Membranbildung in 50 ccm Seewasser + 0, 1, 2, 3, 4 usw. ccm $2^1/_2$ m NaCl gebracht. Nach 37, 47, 57, 110, 150, 200, 280 und 340 Minuten wurde je eine Portion der Eier in normales Seewasser zurückgebracht. Temperatur $16^1/_2{}^0$ C bis $17^1/_2{}^0$ C.

Tabelle II.

Natur der Lösung	Prozentsatz der Eier, welche sich zu Larven entwickelten, nach einem Aufenthalt der Eier in der Lösung von Min. 37	47	57	110	150	200	280	340
50 ccm Seew. + 2 ccm $2^1/_2$ m NaCl	0	0	0	0	0	0	0	0
50 „ „ + 3 „ $2^1/_2$ „ „	0	0	0	0	0	0	0	0
50 „ „ + 4 „ $2^1/_2$ „ „	0	0	0	1%	5%	8%	—	30%
50 „ „ + 5 „ $2^1/_2$ „ „	0	0	30%	50%	80%	90%	90%	40%
50 „ „ + 6 „ $2^1/_2$ „ „	—	—	80%	95%	—	—	—	—
50 „ „ + 8 „ $2^1/_2$ „ „	0	10%	100%	—	—	—	—	—
50 „ „ + 10 „ $2^1/_2$ „ „	2 Larv.	8%	30%	—	—	—	—	—
50 „ „ + 12 „ $2^1/_2$ „ „	0	1%	2%	0	0	0	0	0
50 „ „ + 14 „ $2^1/_2$ „ „	0	0	0	Ein paar Larven	0	0	0	0

Der Versuch bestätigt wieder, daß der Zusatz von weniger als 4 ccm $2^1/_2$ m NaCl zu 50 ccm Seewasser auch bei einer lange fortgesetzten Einwirkung nicht ausreicht, die Eier vor dem Zerfall zu schützen und die Entwicklung hervorzurufen. Es ist ferner deutlich, daß, wenn einmal das Optimum erreicht ist, die Expositionsdauer durch eine weitere Erhöhung der Konzentration des Seewassers nicht verringert werden kann. Bei dem Zusatz von 8 ccm $2^1/_2$ m NaCl ist die minimale Expositionsdauer 47 Minuten, und dasselbe ist der Fall für den Zusatz von 12 ccm $2^1/_2$ m NaCl.

Vielleicht erklärt die folgende Tatsache, warum es nicht gelingt, mit dem Zusatz von weniger als 4 ccm $2^1/_2$ m NaCl zu 50 ccm Seewasser die Eier nach der künstlichen Membranbildung vor dem Zerfall zu retten. Bringt man mit Samen

befruchtete Eier in je 50 ccm Seewasser, dem zunehmende Mengen von $2^1/_2$ m NaCl zugesetzt sind, so bemerkt man, daß der Zusatz von 1 ccm $2^1/_2$ m NaCl zu 50 ccm Seewasser keinen Einfluß auf die Entwicklung hat, daß der Zusatz von 2 ccm $2^1/_2$ m NaCl zu 50 ccm Seewasser die erste Furchung kaum merkbar verzögert, daß der Zusatz von 3 ccm die Furchung um etwa $12^0/_0$ der gewöhnlichen Dauer verzögert, daß aber in einer solchen Lösung die Entwicklung aller Eier in fast normaler Weise stattfindet. Erst der Zusatz von 4 ccm $2^1/_2$ m NaCl zu 50 ccm Seewasser verzögert die erste Furchung um eine Reihe von Stunden (über $100^0/_0$ der normalen Dauer); in dieser Lösung können sich die Eier zwar noch langsam entwickeln, aber die Entwicklung tritt nicht mehr bei allen ein. Es stellt sich also auch hier heraus, daß der Zusatz von 4 ccm NaCl eine kritische Bedeutung hat. In 50 ccm Seewasser + 5 ccm $2^1/_2$ m NaCl entwickelten sich die Eier nicht mehr über das 32. bis 64. Zellstadium hinaus. Es müssen aber wohl in einer Lösung von 50 ccm Seewasser + 4 oder 4 ccm $2^1/_2$ m NaCl erhebliche Änderungen in den chemischen Reaktionen im Ei eintreten. Diese Änderungen führen zur Bildung derjenigen Stoffe, welche dem Ei nach der künstlichen Membranbildung gestatten, sich nach der Übertragung in normales Seewasser normal zu entwickeln. Bleiben die Eier zu lange in der hypertonischen Lösung, so bilden sich die betreffenden Stoffe in zu großen Mengen, oder das Ei leidet aus anderen Gründen.

III. Versuche mit einer reinen hypertonischen NaCl-Lösung.

Die Versuche mit reinen hypertonischen NaCl-Lösungen ergaben das auf den ersten Blick paradoxe Resultat, daß die Eier höhere Konzentrationen von NaCl-Lösungen ertragen können als von hypertonischem Seewasser. Wir werden aber sehen, daß dieses Paradoxon eine einfache Erklärung findet. Die unbefruchteten Eier eines Weibchens wurden der Membranbildung durch Buttersäurebehandlung unterworfen und dann (etwa 10 Minuten später) in 50 ccm $^1/_2$ m NaCl + 3, 4, 5, 6, 7, 8, 10, 12, 14, 16 $2^1/_2$ m NaCl verteilt, und nach 55, 90 und 120 Minuten wurde je eine Portion der Eier in normales Seewasser zurückgebracht. Die Temperatur war 13° C.

Tabelle III.

Natur der Lösung	Prozentsatz der Eier, welche sich zu Larven entwickelten, nach einer Expositionsdauer von 55	90	120 Min.
50 ccm $^1/_2$ m NaCl + 3 ccm $2^1/_2$ m NaCl	0	0	0
50 „ $^1/_2$ „ „ + 4 „ $2^1/_2$ „ „	0	0	0
50 „ $^1/_2$ „ „ + 5 „ $2^1/_2$ „ „	0	0	1%
50 „ $^1/_2$ „ „ + 6 „ $2^1/_2$ „ „	0	1%	5%
50 „ $^1/_2$ „ „ + 7 „ $2^1/_2$ „ „	2%	50%	70%
50 „ $^1/_2$ „ „ + 8 „ $2^1/_2$ „ „	30%	80%	90%
50 „ $^1/_2$ „ „ + 10 „ $2^1/_2$ „ „	80%	90%	—
50 „ $^1/_2$ „ „ + 12 „ $2^1/_2$ „ „	80%	—	—
50 „ $^1/_2$ „ „ + 14 „ $2^1/_2$ „ „	80%	—	—
50 „ $^1/_2$ „ „ + 16 „ $2^1/_2$ „ „	80%	—	—

Durch empirische Versuche habe ich festgestellt, daß eine halbgrammolekulare Lösung von NaCl nahezu oder praktisch isotonisch ist für das Seeigelei. Diese Erfahrung hat sich seit einer Reihe von Jahren dadurch bewährt, daß wir für die Herstellung von künstlichem Seewasser halbgrammolekulare Lösungen von NaCl, KCl, $CaCl_2$, $MgCl_2$ und $MgSO_4$ in den bekannten Verhältnissen mit dem besten Erfolg benutzen. Dieser Mischung wird noch eine Spur von $NaHCO_3$ zugesetzt.

Vergleichen wir nunmehr Tabelle III mit Tabelle I, so finden wir, dass 50 ccm $^1/_2$ m NaCl + 5 ccm $2^1/_2$ m NaCl in Tabelle III die gleiche Wirkung hat wie 50 ccm Seewasser + 4 ccm $2^1/_2$ m NaCl in Tabelle I; mit anderen Worten, daß eine Mischung von 50 ccm $^1/_2$ m NaCl + 1 ccm $2^1/_2$ m NaCl ungefähr isotonisch ist mit Seewasser.

Während nun eine Mischung von 50 ccm Seewasser + 10 ccm $2^1/_2$ m NaCl schon die Eier in 60 Minuten so stark schädigt, daß nunmehr eine kleine Zahl sich entwickelt, und während eine Mischung von 50 ccm Seewasser + 12 ccm $2^1/_2$ m NaCl praktisch alle Eier mit künstlicher Membran in 60 Minuten bei 16° C tötet, entwickelten sich noch 80% der Eier, nachdem sie 60 Minuten in einer Mischung von 50 ccm $^1/_2$ m NaCl + 16 ccm $2^1/_2$ m NaCl gewesen waren. Die Erklärung dieses Paradoxons liegt in dem Umstand, daß die NaCl-Lösung praktisch neutral war, während das Seewasser schwach alkalisch ist. Ich habe nun schon früher gezeigt, daß die schädliche Wirkung hyper-

tonischer Lösungen auf das Ei viel größer ist, wenn diese Lösungen schwach alkalisch oder wenn sie neutral sind; schwach saure hypertonische Lösungen sind noch unschädlicher als neutrale; mit anderen Worten, die schädliche Wirkung der hypertonischen Lösungen auf das Ei nimmt innerhalb der in Betracht kommenden Grenzen mit der Konzentration der Hydroxylionen zu. Da ich ferner zeigen konnte, daß in einer Lösung, welche frei von Sauerstoff ist, die schädliche Wirkung dieser hypertonischen Lösungen ausbleibt, so ist es möglich, daß zwischen beiden Tatsachen ein Zusammenhang besteht, mit andern Worten, daß die Oxydationsvorgänge im Ei mit wachsender Konzentration der HO-Ionen innerhalb gewisser Grenzen beschleunigt werden.

IV. Versuche mit Rohrzucker, Traubenzucker, Glycerin und Harnstoff.

Die Versuche, in welchen reine Rohrzuckerlösungen als hypertonische Lösungen benutzt werden, bieten eine große Überraschung. Nach Gefrierpunktsbestimmungen, welche Herr Dr. W. E. Garrey ausführte, hat das Seewasser in Pacific Grove dieselbe Gefrierpunktserniedrigung wie eine 0,54 m NaCl-Lösung. Das stimmt ziemlich nahe mit den Erfahrungen überein, welche ich mit künstlichem Seewasser gemacht habe. Da nach Kohlrausch und Holborn bei dieser Konzentration etwa 74% der NaCl-Moleküle dissoziiert sind, so ist eine 0,94 m Rohrzuckerlösung mit dem Seewasser isosmotisch. Stellt man aber mit reinen Rohrzuckerlösungen Versuche am Seeigelei an, so findet man, daß eine solche Lösung nicht isotonisch, sondern stark hypertonisch wirkt. Zu je 50 ccm $^6/_8$ m Rohrzuckerlösung wurden 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 ccm $2^1/_2$ m Rohrzucker zugefügt und die unbefruchteten Eier eines Seeigels nach der künstlichen Membranbildung in derselben verteilt. Temperatur 12° C. Die Eier bleiben 58 Minuten in der Lösung. Die Prozentzahl der gebildeten Larven gibt Tabelle IV.

Es wirkt also eine Mischung von 50 ccm $^6/_8$ m Rohrzucker + 6 ccm $2^1/_2$ m Rohrzucker ebenso günstig wie eine Mischung von 50 ccm Seewasser + 8 ccm $2^1/_2$ NaCl oder 50 ccm $^1/_2$ m NaCl + 8 oder 10 ccm $2^1/_2$ m NaCl. Eine Mischung von 50 ccm $^6/_8$ m Rohrzucker + 6 ccm $2^1/_2$ m Rohrzucker ist aber 0,94 m

Tabelle IV.

Natur der Lösung	Prozentsatz der Eier, welche sich zu Larven entwickeln
50 ccm $^6/_8$ m Rohrzucker + 0 ccm $2^1/_2$ m Rohrzucker	0
50 „ $^6/_8$ „ „ + 2 „ $2^1/_2$ „ „	0
50 „ $^6/_8$ „ „ + 3 „ $2^1/_2$ „ „	Einige Larven
50 „ $^6/_8$ „ „ + 4 „ $2^1/_2$ „ „	2%
50 „ $^6/_8$ „ „ + 5 „ $2^1/_2$ „ „	20%
50 „ $^6/_8$ „ „ + 6 „ $2^1/_2$ „ „	60%
50 „ $^6/_8$ „ „ + 7 „ $2^1/_2$ „ „	98%
50 „ $^6/_8$ „ „ + 8 „ $2^1/_2$ „ „	98%

oder mit dem Seewasser isosmotisch. Diese Lösung wirkt aber ebenso hypertonisch auf das Seeigelei wie eine 0,80 m NaCl-Lösung, d. h. eine Lösung, deren osmotischer Druck ungefähr 50% höher ist als der einer 0,94 m Rohrzuckerlösung!

Die einfachste Erklärung ist diejenige, welche den Anschauungen von Hamburger sowohl wie meinen früheren Publikationen entspricht, welche aber bei Overton und Höber auf Widerspruch stoßen wird; nämlich daß die Salze des Eies rascher aus demselben herausdiffundieren als die Rohrzuckerlösung in das Eis diffundiert. Infolge dieses Unterschiedes der Diffusionsgeschwindigkeit muß der osmotische Druck des Eies abnehmen und eine mit dem Seewasser isosmotische Lösung von Rohrzucker muß stark hypertonisch wirken. Eine zweite Möglichkeit wäre die, daß eine Rohrzuckerlösung aus einem noch unbekannten Grunde einen erheblich höheren osmotischen Druck hat, als ihr theoretisch zukommt. Die direkten Messungen des osmotischen Druckes von Rohrzuckerlösungen zeigen, daß die letztere Möglichkeit nicht ganz von der Hand zu weisen ist; die osmotischen Drucke von Rohrzuckerlösungen fallen nämlich alle etwas höher aus als die theoretisch berechneten, aber der Unterschied reicht nicht aus, um die von uns gefundene Erscheinung zu erklären.

Daß in der Tat eine mit dem Seewasser isosmotische Lösung von Rohrzucker für das Seeigelei hypertonisch ist, läßt sich direkt zeigen. Die Eier schrumpfen nämlich in einer solchen Lösung; sie schrumpfen sogar schon in einer $^7/_8$ m Rohrzuckerlösung; in einer $^6/_8$ m Rohrzuckerlösung behalten sie ihr Volumen, und in einer $^5/_8$ m Rohrzuckerlösung nehmen sie an Vo-

lumen zu. Ich habe übrigens schon vor einigen Jahren beobachtet, daß Medusen (Polyorchis) in einer reinen mit dem Seewasser isosmotischen Rohrzuckerlösung erheblich schrumpfen.

Daß eine $^6/_8$ m Rohrzuckerlösung ungefähr die für das Seeigelei isotonische Konzentration besitzt, läßt sich indirekt zeigen, wenn man mit Samen befruchtete Seeigeleier unmittelbar nach der Befruchtung in reine Rohrzuckerlösungen verschiedener Konzentration bringt. Versuche dieser Art zeigten, daß die erste Furchung in einer $^6/_8$ m Rohrzuckerlösung bei allen Eiern eintrat, und zwar fast zur selben Zeit wie im normalen Seewasser; während sie in $^5/_8$ und $^7/_8$ m Lösungen verspätet eintrat und nur bei wenig Eiern. In Lösungen unter $^5/_8$ m und über $^7/_8$ m Rohrzucker furchte sich überhaupt kein Ei mehr. Auch in der $^6/_8$ m Rohrzuckerlösung ging die Furchung nicht über das 4 oder 8 Zellstadium hinaus; was der Ansicht entspricht, daß die Salze des Eies aus demselben herausdiffundieren, wenn es in eine Rohrzuckerlösung gebracht wird. Bringt man die Eier aber wieder in Seewasser zurück, so entwickeln sie sich normal. Dieses Verhalten des Eies in einer Rohrzuckerlösung entspricht dem Verhalten einer Meduse in derselben Lösung, in dem nämlich auch bei der Meduse sowohl wie beim Herzen alsbald die spontanen Kontraktionen in einer reinen Rohrzuckerlösung aufhören.[1]) Auch hier dürfte es sich darum handeln, daß infolge des Herausdiffundierens von Natriumsalzen die Erregbarkeit des Herzens und der Meduse rasch abnimmt. Auch Overton fand, daß die Erregbarkeit des Froschmuskels in einer Rohrzuckerlösung rasch abnimmt; was Hamburger wohl mit Recht so erklärt, daß der Muskel seine Erregbarkeit infolge der Herausdiffundierens von Natriumsalzen oder -ionen verliert.[2])

Stellt man ähnliche Resultate wie mit Rohrzucker mit einer reinen Traubenzuckerlösung an, so erhält man ähnliche Resultate. Die unbefruchteten Eier eines Seeigels wurden (nach der künstlichen Membranbildung) in Lösungen von 50 ccm $^6/_8$ m Traubenzucker gebracht, denen verschiedene Mengen von 2 m Traubenzucker zugesetzt waren. Tabelle V gibt die Resul-

---

[1]) J. Loeb, Am. Journ. of Physiol. 3, 384, 1900.

[2]) H. J. Hamburger, Osmotischer Druck und Ionenlehre 3, 147, Wiesbaden 1904.

tate eines Versuches. Expositionsdauer 58 Minuten, Temperatur $15^1/_2{}^0$ C.

Tabelle V.

Natur der Lösung	Prozentsatz der sich entwickelnden Eier
50 ccm $^6/_8$ m Traubenzucker + 10 ccm 2 m Traubenzucker	0
50 „ $^6/_8$ „ „ + 12 „ 2 „ „	0
50 „ $^6/_8$ „ „ + 14 „ 2 „ „	0
50 „ $^6/_8$ „ „ + 16 „ 2 „ „	0
50 „ $^6/_8$ „ „ + 18 „ 2 „ „	1 Larve
50 „ $^6/_8$ „ „ + 20 „ 2 „ „	30%
50 „ $^6/_8$ „ „ + 24 „ 2 „ „	50%
50 „ $^6/_8$ „ „ + 28 „ 2 „ „	40%

Das Optimum der Wirkung wird in diesem Falle erreicht mit einer Mischung von 50 ccm $^6/_8$ m Traubenzucker + 24 ccm 2 m Traubenzucker. Berücksichtigt man das Kristallwasser, so ist die Konzentration dieser Lösung 1,04 m. Diese Lösung hat ebenfalls nur einen wenig höheren osmotischen Druck als Seewasser. Wir schließen, daß die Salze, wie im Falle von Rohrzucker, aus dem Ei herausdiffundieren, daß aber der Traubenzucker etwas rascher in das Ei diffundiert als Rohrzucker, aber nicht ganz so rasch, wie die Salze aus dem Ei diffundieren.

Versuche mit Glycerin und Harnstoff zeigten, daß reine Lösungen beider Stoffe wenig günstige Resultate geben, weil keine oder nur wenige Eier nach der Behandlung mit hypertonischen Lösungen dieser Stoffe sich entwickeln. Im Falle von reinen Harnstofflösungen erhielt ich wenige (2—3%) Larven nach der Behandlung mit $^{12}/_8$ m Harnstoff. Glycerin ergab keine Larven nach der Behandlung mit 50 ccm $^6/_8$ m Glycerin + 20 ccm $2^1/_2$ m Glycerin oder schwächeren Lösungen.

V. Versuche mit den hypertonischen Lösungen anderer Salze.

Ähnliche Versuche wie die beschriebenen wurden mit den hypertonischen Lösungen einiger anderer Salze angestellt. Um das Zahlenmaterial nicht zu sehr zu häufen, will ich nur die Konzentrationen erwähnen, aus denen das optimale Resultat hervorgeht. Die Expositionsdauer war stets 58 oder 60 Minuten. Die Temperatur in der Nähe von 14° C.

Tabelle VI.

Natur der Lösung	Prozentsatz der Eier welche Larven bildeten
50 ccm $^1/_2$ m LiCl + 6 ccm $2^1/_2$ m LiCl	5%
50 „ $^1/_2$ „ „ + 7 „ $2^1/_2$ „ „	70%
50 „ $^1/_2$ „ KCl + 7 „ $2^1/_2$ m KCl	1%
50 „ $^1/_2$ „ „ + 8 „ $2^1/_2$ „ „	60%
50 „ $^2/_8$ „ $MgCl_2$ + 6 ccm $2^1/_2$ m $MgCl_2$	50%
50 „ $^2/_8$ „ „ + 7 „ $2^1/_2$ „ „	80%
50 „ $^2/_8$ „ $CaCl_2$ + 6 „ $2^1/_2$ „ $CaCl_2$	20%
50 „ $^2/_8$ „ „ + 7 „ $2^1/_2$ „ „	90%

VI. Vergleich der osmotischen Drucke gleich starkwirkender Lösungen verschiedener Stoffe.

Wir wollen nunmehr die optimalen Konzentrationen verschiedener Lösungen zusammenstellen und deren osmotische Drucke vergleichen. Das ist zulässig, weil die optimale Konzentration sich recht scharf bestimmen läßt. Wenn der Leser die verschiedenen Tabellen vergleicht, so findet er, daß für eine gewisse Expositionsdauer (z. B. 55 Minuten, Tabelle III), beim Zusatz von 6 ccm $2^1/_2$ m NaCl keine Larve gebildet wird, bei Zusatz von 7 ccm 2%, bei Zusatz von 8 ccm 30%, und daß bei 10 ccm das Maximum erreicht wird. Der Anstieg der Larve ist also sehr steil bis zum Maximum; bei den Versuchen in Tabelle IX ist das noch viel deutlicher. Meist ist der Verlauf so, daß bei Zusatz von n ccm $2^1/_2$ m Lösung keine Larve gebildet wird, bei Zusatz von n + 1 ccm ein kleiner Prozentsatz und bei n + 2 ccm bereits das Maximum erreicht wurde.

Die Größe der Dissoziation ist nach Kohlrausch und Holborn berechnet. Die Werte beziehen sich auf eine Expositionsdauer von nahezu 58 Minuten bei nahezu 15° C.

Tabelle VII.

Optimale Konzentration der Lösung verschiedener Stoffe für die künstliche Parthenogenese.

Natur der Lösung	Optimale Konzentration in Grammolekülen	Dissoziation der Lösung	Osmotischer Druck der Lösung in Atmosphären
Rohrzucker	0,96 m	—	21,53
Traubenzucker	1,04 „	—	23,33
NaCl	0,79 „	71%	30,28
KCl	0,78 „	77%	30,95
LiCl	0,74 „	66%	27,59
$CaCl_2$	0,50 „	64%	25,57
$MgCl_2$	0,49 „	70%	26,47
Harnstoff	1,50 „	—	33,64

Zur Diskussion der Resultate benutzen wir die letzte Reihe, nämlich den osmotischen Druck der verschiedenen Lösungen in Atmosphären. Nach der Natur der Versuche ist der mögliche Irrtum nicht größer als 0,5 Atmosphären. Die Lösungen waren mit den besten Kahlbaumschen Präparaten und mit Wasser, das in Glas destilliert war, sehr sorgfältig hergestellt und, wo dies möglich war, hinterher titriert. Die Versuche wurden verifiziert mit Lösungen verschiedener Herkunft; das war insbesondere bei den Rohrzuckerversuchen der Fall. Der hier gewählte Wert für Rohrzucker ist etwas zu hoch.

Wir sehen, daß die beiden Zuckerlösungen erheblich stärker wasserentziehend wirken als Salzlösungen (Chloride) von demselben osmotischen Druck. Die nächstliegende Erklärung für diese Erscheinung ist die, daß die Salze rascher aus dem Ei herausdiffundieren als die beiden Zuckerarten in das Ei diffundieren. Die Wirksamkeit von Rohrzuckerlösungen ist größer als die von Traubenzuckerlösungen, was der allgemeinen physiologischen Erfahrung entspricht, daß Traubenzucker leichter resorbiert wird als Rohrzucker.

Wie erwähnt, enthält die Tabelle VII die Konzentrationen, welche die höchste Zahl von Larven bei einer Expositionsdauer von 58 Minuten und 14° C gaben. Läßt man Eier länger in der Lösung und bestimmt man die Schwellenkonzentration, d. h. die Konzentration, bei der die ersten Larven erhalten werden, so erhält man geringere Werte. Man kann beispielsweise schon mit einer $^7/_8$ m Rohrzuckerlösung oder einer noch schwächeren, aber immerhin hypertonischen Lösung einen geringen Prozentsatz der Eier nach der Membranbildung zur Entwicklung bringen, wenn man die Eier nur lange genug in der Lösung läßt. Wir können hierauf nicht näher eingehen. Die nötigen Daten finden sich in den verschiedenen Tabellen dieser Arbeit, namentlich Tabelle IX.

Ich stellte ferner Versuche mit $^6/_8$ m Rohrzuckerlösungen an, denen verschiedene Mengen $2^1/_2$ m Lösungen verschiedener Stoffe zugesetzt wurden, und ermittelte die Konzentration, welche bei einer Expositionsdauer von 60 Minuten bei 14° C den größten Prozentsatz von Larven hervorrief. Ich sehe von der ausführlichen Mitteilung der gesamten Daten ab und gebe nur die gefundenen optimalen Konzentrationen.

Tabelle VIII.

Natur der Lösung	Dissoziation	Osmotischer Druck der Lösung in Atmosphären
50 ccm $^6/_8$ m Rohrzucker + 7 ccm $2^1/_2$ m Rohrzucker	0	21,53
50 „ $^6/_8$ „ „ +14 „ $2^1/_2$ „ Glycerin	0	25,43
50 „ $^6/_8$ „ „ +16 „ 2 „ Traubenzucker	0	22,43
50 „ $^6/_8$ „ „ + 7 „ $2^1/_2$ „ NaCl	78%	26,91
50 „ $^6/_8$ „ „ + 7 „ $2^1/_2$ „ KCl	81%	27,36
50 „ $^6/_8$ „ „ + 5 „ $2^1/_2$ „ LiCl	78%	24,44
50 „ $^6/_8$ „ „ + 3 „ $2^1/_2$ „ $CaCl_2$	75%	23,78
50 „ $^6/_8$ „ „ + > 24 ccm $2^1/_2$ m Harnstoff	0	> 29,61

Diese Lösungen sind mit den in Tabelle VII erwähnten isosmotisch. Alle Lösungen der Tabelle VIII haben einen geringeren osmotischen Druck als die korrespondierenden Lösungen in Tabelle VII (mit Ausnahme der Rohrzuckerlösungen, die identisch sind); was wir daraus erklären, daß die Lösungen der Tabelle VIII wesentlich Rohrzuckerlösungen sind und daß es deshalb in allen Lösungen zum Austritt von Salzen aus dem Ei kommt. Berücksichtigt man die Natur des Stoffes, der zur Erhöhung des osmotischen Drucks der $^6/_8$ m Rohrzuckerlösung angewendet wurde, so findet man genau dieselbe Reihenfolge in beiden Tabellen, nämlich nach abnehmender osmotischer Wirksamkeit geordnet. Rohrzucker, Traubenzucker, $CaCl_2$, $MgCl_2$, LiCl, Glycerin, NaCl, KCl, Harnstoff.

VII. Weitere Versuche mit hypertonischem Seewasser.

Angesichts der im vorigen Abschnitt erhaltenen Resultate ist es nötig, noch durch besondere Versuche zu zeigen, daß die unbefruchteten Eier des Seeigels nach der künstlichen Membranbildung sich in Gegenwart von Sauerstoff und bei Zimmertemperatur nur dann entwickeln, wenn sie erst eine Zeitlang in eine hypertonische Lösung gebracht werden. Zu dem Zweck soll eine Versuchsreihe mitgeteilt werden, in der die Eier eines Seeigels 57 Minuten bei einer Temperatur von 13,8° C in je 50 ccm Seewasser gebracht wurden, dem wachsende Mengen von $2^1/_2$ m Lösungen verschiedener Stoffe zugesetzt wurden. Die Tabelle gibt den Prozentsatz der Larven in jeder Lösung bis zum Maximum.

Tabelle IX.

Natur der Lösung 50 ccm Seewasser	Prozentsatz der sich zu Larven entwickelnden Eier in KCl	LiCl	$CaCl_2$	$MgCl_2$	$MgSO_4$	Rohrzucker
+ 1 ccm $2^1/_2$ m	0	0	0	0	0	0
+ 2 „ $2^1/_2$ „	0	0	0	0	0	0
+ 3 „ $2^1/_2$ „	0	0	Wenige Larven	50 %	0	0
+ 4 „ $2^1/_2$ „	0	0	85 %	100 %	0	0
+ 5 „ $2^1/_2$ „	Wen. Larven	60 %	100 %	100 %	0	0
+ 6 „ $2^1/_2$ „	40 %	100 %	—	—	0	0
+ 7 „ $2^1/_2$ „	60 %	100 %	—	—	1 %	Wenige Larven
+ 8 „ $2^1/_2$ „	100 %	—	—	—	5 %	40 %
+ 9 „ $2^1/_2$ „	—	—	—	—	—	80 %
+ 10 „ $2^1/_2$ „	—	—	—	—	90 %	100 %
+ 12 „ $2^1/_2$ „	—	—	—	—	100 %	—

Für Traubenzucker war der Schwellenwert 11,5 ccm $2^1/_2$ m zu 50 ccm Seewasser und das Optimum 14,4 ccm $2^1/_2$ m Traubenzucker zu 50 ccm Seewasser, wobei 95 % der Eier sich zu normalen Larven entwickelten. Der Anstieg der Kurve der sich entwickelnden Larven ist ein sehr steiler, d. h. nachdem der Schwellenwert der wirksamen Konzentration erreicht ist, nimmt der Prozentsatz der sich entwickelnden Larven rasch zu, bis das Maximum erreicht ist.

Da sich der Dissoziationsgrad in diesen Lösungen nicht mit Sicherheit bestimmen lässt, so sehe ich von einer Vergleichung der Resultate in Tabelle IX mit denjenigen in Tabelle VII und VIII ab. Es ist vielleicht von Interesse, daß in diesen Versuchen 10 ccm $2^1/_2$ m Rohrzucker zu 50 ccm Seewasser zugeführt werden müssen, um die optimale Wirkung zu erreichen, und daß deshalb in diesem Falle der Unterschied zwischen der Menge von Rohrzucker, welche zur Konzentrationserhöhung nötig ist, nicht so weit hinter der Menge von NaCl, welche für diesen Zweck erforderlich ist, zurücksteht, als im Falle der Anwendung reiner Rohrzucker- und NaCl-Lösungen. Ich glaube, daß diese Tatsache für die Ansicht spricht, daß in einer reinen Rohrzuckerlösung die Salze des Seewassers besonders NaCl und KCl rasch aus dem Ei herausdiffundieren und so dessen osmotischen Druck verringern; während im Seewasser, dessen Konzentration durch Zusatz von etwas Rohrzucker erhöht ist, diese Diffusion von Salzen aus dem Ei natürlich in sehr viel geringerem Maße stattfindet.

VIII. Schlußbemerkungen.

Die Arbeit behandelt zwei Themata; das erste ist ein Beitrag zur Lösung der Frage, wie die hypertonische Lösung bei der künstlichen Parthenogenese wirkt. Wir müssen hierbei im Auge behalten, daß die hypertonische Lösung nicht als das entwicklungserregende Agens, sondern nur als ein korrigierendes Mittel zu betrachten ist. Das entwicklungserregende Mittel ist die künstliche Membranbildung, und dieser Vorgang beruht anscheinend auf einer Lösung von Lipoiden an der Peripherie des Eies, insbesondere dem Lecithin. Dieser Prozeß genügt, um die Bildung der Astrosphären, die Kernteilung und, wenn das Ei in niederer Temperatur gehalten wird, auch die Zellteilung und weitere Entwicklung anzuregen. Es ist also unrichtig, zu behaupten, daß die Behandlung des Eies mit hypertonischem Seewasser in diesem Falle nötig sei, die Astrosphärenbildung herbeizuführen. Die hypertonische Lösung dient nur dazu, gewisse chemische Prozesse, welche durch die künstliche Membranbildung angeregt werden, in die richtigen Bahnen zu lenken. Dazu ist es nötig, daß das Ei eine bestimmte Zeit in einem Medium bleibt, in dem ihm Wasser entzogen wird. Der Schwellenwert der Hypertonizität liegt bei der Konzentrationserhöhung des äußeren Mediums, die eben ausreicht, die Entwicklung von mit Samen befruchteten Eiern eine Reihe von Stunden zu hemmen; das Optimum der Konzentrationserhöhung ist nur wenig höher. Ist die optimale Konzentrationserhöhung einmal erreicht (d. h. die Konzentration bei der das Maximum normaler Larven erzielt wird), so wird durch eine weitere Konzentrationserhöhung der Lösung keine Abkürzung der Zeit erzielt, während welcher das Ei in der hypertonischen Lösung bleiben muß. Das unterstützt die Ansicht, daß die hypertonische Lösung nur deshalb günstig wirkt, weil im Ei nach der Membranbildung Stoffe gebildet werden müssen, welche die Entwicklung wieder in die richtigen Bahnen lenken. Dazu ist eine gewisse Zeit erforderlich, die für die Schwellenkonzentration höher ist als für die optimale Konzentration, die aber, wenn die letztere einmal erreicht ist, durch weitere Konzentrationserhöhung nicht verringert werden kann.

Die zweite hier behandelte Frage ergab den Nachweis,

daß isosmotische Lösungen für die Eizelle im allgemeinen nicht isotonisch sind. Der Umstand, daß die optimale Konzentration so scharf bestimmt ist, ermöglicht es, die gleich stark wasserentziehenden Konzentrationen verschiedener Lösungen zu bestimmen. Die Abweichungen der Isotonie von den berechneten Werten lassen sich leicht verstehen, wenn wir annehmen, daß das Ei für die Salze resp. Ionen des Seewassers durchgängig ist, daß aber die Salze erheblich langsamer durch das Protoplasma diffundieren als Wasser und daß erhebliche Unterschiede in der Diffusionsgeschwindigkeit verschiedener gelöster Stoffe bestehen. Nach zunehmender Geschwindigkeit geordnet ist die Reihenfolge der Diffusionsgeschwindigkeiten für das Seeigelei: Rohrzucker, Traubenzucker, $CaCl_2$, $MgCl_2$, LiCl, Glycerin, NaCl, KCl, Harnstoff, wobei Rohrzucker der am langsamsten diffundierende Stoff ist.

Hämolytische Versuche.

Von

Svante Arrhenius.

Bei den experimentellen Untersuchungen in der Immunochemie nehmen die Versuche über die hämolytische Wirkung verschiedener Agenzien eine hervorragende Stellung ein. Dies hängt von zwei Umständen ab; teils lassen die betreffenden Versuche sich außerhalb des Tierkörpers in Versuchsgläschen mit relativ leicht zu beschaffendem Material anstellen, teils erlauben diese Versuche durch einfache colorimetrische Messungen die Ausführung von relativ genauen quantitativen Bestimmungen. Da noch sehr viele Fragen auf diesem Gebiete kaum angerührt sind und in recht einfacher Weise experimentell beleuchtet werden konnten, habe ich eine Anzahl von hämolytischen Versuchen zur Aufklärung einiger dieser Fragen im Institut von Dr. Madsen mit den da zugänglichen guten Hilfsmitteln im Sommer 1907 angestellt. Über die hauptsächlichen Ergebnisse dieser Versuche will ich im folgenden Bericht erstatten.[1])

Das Versuchsmaterial war Pferdeblut. Aus diesem wurden die roten Blutkörperchen durch Zentrifugieren und zweimaliges Waschen mit 0,9 $^0/_0$iger Kochsalzlösung abgeschieden und danach meistens in 1 $^0/_0$iger Aufschwemmung in Salzlösung von der genannten Konzentration verwendet. Die Messungen betreffen wie gewöhnlich den Grad der Hämolyse, der in Prozent ausgedrückt ist, so daß totale Hämolyse durch 100 bezeichnet wird. Dabei wurden 7,5 ccm der Blutemulsion bei jedem Versuch benutzt.

Erst wurden einige Versuche über die gleichzeitige Ein-

[1]) Eine ausführlichere Mitteilung über diese Versuche liegt in: Meddelanden fr. K. Vetenskapsakademiens Nobelinstitut (Stockholm) 1, Nr. 10, 1908 vor.

wirkung von mehreren hämolytischen Agenzien, die nicht in merklichem Grade chemisch aufeinander einwirken, angestellt. Drei Lösungen von Natronlauge (0,02 norm.), Saponin (0,05 %) und Ammoniak (0,04 norm.) wurden dargestellt. Es wurde festgestellt, daß bei Hervorbringung von etwa 20 %iger Hämolyse die NaOH-Lösung 0,8 mal, die Saponinlösung 0,6 mal so stark wirkte wie die NH_3-Lösung. Verschiedene Mengen von zwei der Lösungen wurden gemischt und die hämolytische Wirkung der Mischungen ermittelt. Als Beispiel möge ein Versuch angeführt werden. 0,15 ccm der Saponinlösung und 0,07 ccm der Ammoniaklösung wurden zu 7,5 ccm der Blutemulsion gesetzt. Der Grad der Hämolyse war 25. Da 0,15 ccm der Saponinlösung mit 0,09 ccm der Ammoniaklösung äquivalent sind, so könnte man mit dem erzielten Effekt denjenigen von $0,09 + 0,07 = 0,16$ ccm Ammoniak vergleichen. Dieser ist 28 %ige Hämolyse, stimmt also ganz gut mit dem gefundenen überein. Im allgemeinen stimmt diese Berechnungsweise recht gut mit den Versuchsergebnissen überein, und jedenfalls viel besser als eine andere, wobei man annimmt, daß die Wirkung gleich der Summe der Einzelwirkungen der beiden Agenzien, jedes für sich genommen, wäre — diese Summe entspricht im vorliegenden Fall 11 %iger Hämolyse.

Hämolyse durch Säuren. Während bei der Einwirkung von Basen und den meisten gewöhnlichen hämolytischen Agenzien, wie Saponin, Solanin, Tetanolysin und anderen Lysinen bakteriellen oder tierischen Ursprungs die hämolytische Blutemulsion schön blutfarben ist und der Grad der Hämolyse stetig mit der Menge des einwirkenden Körpers steigt, findet ein ganz anderes Verhalten bei der Einwirkung der Säuren statt, wie folgende Versuchsdaten betreffs der Einwirkung von den angegebenen Mengen von 0,04 normaler Essigsäure und 0,04 normalem Chlorwasserstoff andeuten. Die Zeit der Einwirkung war recht lang, 21 Stunden bei 37° C.

Essigsäure 0,04 normal.

Zusatz ccm	0,5	0,4	0,3	0,25	0,2	0,15
Grad der Hämolyse	100	77	14	18	26	12
Farbe	schwarz-braun	dunkel-braun	mittel-braun	hell-braun	rötlich	rötlich

Die zwei ersten Versuche geben eine starke Flockung von

ausgefällten Eiweißkörpern, bei den zwei mittleren Versuchen trat sehr deutliche, bei den zwei letzten eine unbedeutende Agglutination der zum Boden gesetzten Blutkörperchen hervor.

Chlorwasserstoff 0,04 normal.

Zusatz ccm	0,5	0,4	0,3	0,25	0,2	0,15
Grad der Hämolyse	100	100	60	27	48	52
Farbe	schwarzbraun		mittelbraun	gelbbraun	rötlich	

In allen diesen Versuchen trat Flockenbildung — sehr stark in den ersten, schwächer in den letzten — hervor. Die Agglutination machte sich im vierten Versuch besonders geltend, weniger in den beiden letzten.

Auffallend ist in diesen beiden Versuchsreihen das Minimum der Wirkung bei einem Zusatz von 0,25 bis 0,3 ccm, wonach ein Maximum bei noch geringeren Zusätzen folgt. Zum Vergleich mögen folgende Versuche mit 0,02 normaler Natronlauge dienen.

Natronlauge 0,02 normal.

Zusatz ccm	0,3	0,2	0,15	0,1	0,07	0,05
Grad der Hämolyse	100	87	57	34	16	13
Farbe	Alle Versuche geben schöne blutrote Farbe.					

Bei den Säuren tritt offenbar ein doppelter Effekt ein. Bei großen Zusätzen von Säure werden die Eiweißstoffe der Blutkörperchen heftig koaguliert mit darauf folgender Bildung von Eiweißflocken oder, wenn der Säurezusatz nicht so heftig wirkt, Agglutination. Die koagulierte Hülle der agglutinierten Blutkörperchen verhindert das Hinaustreten des Blutfarbstoffs (oder das Hineindringen der Wasserstoffionen). Bei starker Agglutination tritt deshalb die Hämolyse zurück und zeigt ein Minimum, sie nimmt wieder zu, wenn die Agglutination bei geringerem Zusatz wieder abnimmt. Natürlicherweise muß dann ein Maximum des Hämolysegrades zum Vorschein kommen, denn mit abnehmender Säuremenge muß zuletzt die Hämolyse auf Null sinken.

Ein ähnliches doppeltes Verhalten zeigt Quecksilberchlorid, wie aus den Beobachtungen von Hans Sachs[1]) und V. O. Gros[2])

[1]) H. Sachs, Münch. med. Wochenschr. 1902, Nr. 5; vgl. Arrhenius, Immunochemie, S. 158.

[2]) V. O. Gros, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 57, 73, 1907.

hervorgeht. Bei starkem Zusatz zeigt sich eine heftige Agglutination, welche die Hämolyse verhindert, bei mäßigem Zusatz tritt etwas Hämolyse neben der Agglutination ein, bei schwächerem Zusatz steigt die Hämolyse, bis sie vollständig wird, um nachher bei sehr geringen und abnehmenden Zusätzen gegen Null zu sinken.

Die Wirkung der Essigsäure ist etwas geringer als diejenige der Chlorwasserstoffsäure. Durch Zusatz von Acetaten kann die Wirkung der Essigsäure noch erheblich erniedrigt werden, ungefähr wie diejenige von Ammoniak durch Zusatz von Ammoniumsalzen.

Hämolyse von wechselnden Blutmengen. Wenn die Menge der aufgeschwemmten roten Blutkörperchen in einer gegebenen Menge Flüssigkeit zunimmt, so wächst auch damit die zur Erreichung eines bestimmten Grades der Hämolyse nötige Menge von hämolytischer Substanz. Als Beispiel können wir die Saponinmengen (y) anführen, welche zur vollständigen Hämolyse von 7,5 ccm einer Blutkörperchenemulsion nötig waren, deren Prozentgehalt (x) zwischen 0,1 und 5 wechselte. Diese Menge wird durch folgende kleine Tabelle gegeben:

$x =$	0,1	0,3	0,8	2	5 % Blutkörperchen,
$y =$	2,0	2,5	3,5	6	9 ccm von 0,05 %iger Saponinlösung,
$y_{ber} = 2x + 1,8 =$	2,0	2,4	3,4	5,8	10,8

Die totale Menge der Flüssigkeit war 8 ccm. Die zugesetzte Saponinmenge ist der Bequemlichkeit halber in derselben Einheit (1 ccm von 0,05 %iger Lösung) ausgedrückt. Die Menge y wächst mit x, aber nicht dieser Quantität proportional. Dagegen findet man, daß y innerhalb der Versuchsfehler als eine lineare Funktion $y = a + bx$ dargestellt werden kann — im vorliegenden Falle ist $a = 1,8$, $b = 2$. Eine sehr große Anzahl von solchen Versuchen wurde mit Ammoniak, Natronlauge, Essigsäure und Saponin ausgeführt, wobei auch andere Graden der Hämolyse als die vollständige zu den Bestimmungen benutzt wurden. Das angegebene Verhältnis, daß die hämolysierende Menge als eine lineare Funktion der Blutkonzentration dargestellt werden kann, zeigte sich überall zutreffend.

Es ist nicht schwer, das genannte Verhalten zu deuten. Bei 50 %iger Hämolyse z. B. sind die Blutkörperchen in einer

bestimmten Weise von dem hämolytischen Körper angegriffen, d. h. sie enthalten eine bestimmte Menge Saponin pro Kubikzentimeter der Blutkörperchen. Nimmt die Menge der Blutkörperchen auf das Doppelte zu, so steigt die in ihnen aufgenommene Menge des Saponins in demselben Verhältnis. Diese Menge, die y_1 genannt werden möge, kann folglich als $y_1 = kx$ dargestellt werden. Der Saponingehalt der Blutkörperchen steht in einem bestimmten Verhältnis zum Saponingehalt der umgebenden Flüssigkeit. Folglich, da in allen den betrachteten Fällen (bei 50%iger Hämolyse) die Konzentration des Saponins in den Blutkörperchen dieselbe ist, muß auch eine ganz bestimmte andere Konzentration (l) der umgebenden Flüssigkeit, deren Menge $\left(8 - \frac{7{,}5\,x}{100}\right)$ ccm ist,[1]) in allen diesen Fällen herrschen. Die darin befindliche Saponinmenge sei y_2, so ist nach dem eben Gesagten $y_2 = l\left(8 - \frac{7{,}5\,x}{100}\right)$. Die Totalmenge des Saponins beim Versuch ist demnach:

$$y = y_2 + y_1 = l\left(8 - \frac{7{,}5\,x}{100}\right) + kx = a + bx.$$

Aus diesen Versuchen kann man offenbar berechnen, wie die Konzentration, k, des Saponins in den Blutkörperchen mit derjenigen, l, in der umgebenden Flüssigkeit zunimmt. Man findet, daß die beiden Konzentrationen einander nahezu proportional wachsen, und zwar ist die Konzentration des Saponins in den Blutkörperchen etwa 120mal größer als in der umgebenden Flüssigkeit. Noch größere Zahlen findet man für die anderen hämolytischen Körper, nämlich: für Ammoniak 880, für Natronlauge 780 und für Essigsäure 590.

Aus diesen Daten ersieht man, wie unerhört kräftig die hämolytischen Gifte von den Blutkörperchen aufgenommen werden. Dieser Umstand ist von großer Bedeutung für das Verständnis der Wirkung der Antitoxine auf die hämolytischen Gifte. In diesem Falle herrscht nämlich ein Gleichgewichtsverhältnis zwischen Toxin und Antitoxin auf der einen Seite und deren Umwandlungsprodukte auf der anderen. Da das

---

[1]) Das Volumen der Blutemulsion ist 7,5 ccm, dasjenige der Zusätze 0,5 ccm, also zusammen 8 ccm.

Gift von den Blutkörperchen zum größten Teil aufgenommen wird, wird das ausschlaggebende Gleichgewichtsverhältnis sich in den Blutkörperchen ausbilden. Die Antitoxine gegen die Lysine werden folglich ebenfalls von den Blutkörperchen in sehr hohem Grade aufgenommen. Es gilt also hier ungefähr dasselbe wie für die Reaktion zwischen Immunkörper und Alexin, welche, wie ich früher zu zeigen versucht habe,[1]) sich im Innern der Erythrozyten vollzieht.

Die Einwirkung von Lecithin. Es ist in vielen Fällen gefunden worden, daß die hämolytische Wirkung von einigen Körpern durch die Anwesenheit von Lecithin begünstigt wird. Am bekanntesten ist wohl die durch Kyes[2]) näher untersuchte hämolytische Wirkung des Cobragiftes, welche in außerordentlich hohem Grade durch Zusatz von Lecithin verstärkt wird. Dabei hat das Lecithin selbst eine hämolytische Wirkung, welche jedoch durch Verdünnung sehr unbedeutend gemacht werden kann, so daß sie die Beobachtungsresultate nicht in nennenswertem Grade stört.

Diese Einwirkung des Lecithins tritt bei der Hämolyse durch Säuren sehr stark hervor.[3]) Als Beispiel mögen folgende Daten für Chlorwasserstoff und Essigsäure dienen. Einige Versuche sind mit gewöhnlichen Blutkörperchen in $1^0/_0$iger Aufschwemmung ausgeführt — sie sind unten mit norm. Bl. bezeichnet. Andere wurden mit einer $1^0/_0$igen Aufschwemmung von Blutkörperchen ausgeführt, zu welcher pro Liter 7,5 ccm einer $1^0/_0$igen Lecithinemulsion $2^1/_2$ Stunden vor dem Versuch gesetzt worden waren — sie sind unten mit Lec.-Bl. bezeichnet. H.-Gr. gibt den Grad der Hämolyse an. Die Versuchsmischungen standen während einer Stunde bei 37° C und wurden nachher kalt gestellt.

Chlorwasserstoff (0,04 normal).

Zusatz ccm . .	0,4	0,3	0,25	0,2	0,1	0,05	0
H.-Gr. norm. Bl.	100	60	12	4	0	0	0
H.-Gr. Lec.-Bl.	100	100	100	100	75	20	5

---

[1]) Arrhenius, Immunochemie S. 151.

[2]) P. Kyes, Berl. klin. Wochenschr. 1903, Nr. 42 u. 43.

[3]) Landsteiner und Jagič beschreiben Hämolyse durch Kieselsäure bei Anwesenheit von Lecithin. Wien. klin. Wochensch. 1904, Nr. 3; Münch. med Wochenschr. 1904, Nr. 27.

Essigsäure (0,04 normal).

Zusatz ccm . .	0,4	0,3	0,25	0,2	0,1	0,05	0
H.-Gr. norm. Bl.	35	10	4	2	0	0	0
H.-Gr. Lec.-Bl.	100	100	100	100	75	15	5

Die Einwirkung des Lecithins allein wird durch die Ziffer 5 dargestellt, sie kann in erster Annäherung vernachlässigt werden. Wie aus diesen Daten ersichtlich, wirkt 0,1 ccm der Säuren nach Lecithinzusatz ungefähr ebenso kräftig hämolytisch wie 0,4 ccm ohne Zusatz von Lecithin.

Die Hämolyse durch Säuren bei Lecithinzusatz hat denselben Charakter wie die von Basen hervorgerufene, die hämolysierte Flüssigkeit ist blutrot und nicht braun, die Koagulation und Agglutination treten stark zurück.

Die Ursache der Lecithinwirkung ist aus Versuchen ersichtlich, bei welchen das Lecithin verschieden lange Zeit auf die Blutkörperchen eingewirkt hatte, bevor die Säure zugesetzt wurde. War diese Zeit Null, d. h. wurden Säure (0,2 ccm 0,04 norm. HCl oder Essigsäure) und Lecithin unmittelbar nacheinander zu den 7,5 ccm der 1 $^0/_0$ igen Blutemulsion zugesetzt, war der Grad der Hämolyse 4, wurde das Lecithin 16,5 bzw. 33 Minuten vor der Säure (bei Zimmertemperatur) zugesetzt, stieg der Grad der Hämolyse auf 12 bzw. 30 Prozent. Das Lecithin sensibilisiert offenbar allmählich die Blutkörperchen in bezug auf die hämolytische Wirkung der Säuren, dagegen nicht in bezug auf ihre koagulierende oder agglutinierende Eigenschaft.

Auf die hämolytische Wirkung der Alkalien hat das Lecithin keinen merklichen Einfluß. Dagegen setzt es die Wirkung des Saponins recht stark herab, wie folgende Daten (Mittel aus zwei Versuchsreihen) ergeben. Das Lecithin hatte, wie bei den Säuren, $2^1/_2$ Stunden bei 20 ^{0} C auf das Blut eingewirkt.

Saponin 0,05 $^0/_0$ ige Lösung.

Zusatz ccm	0,3	0,2	0,15	0	0
H.-Gr. norm. Bl.	100	42	9	3	0
H.-Gr. Lec.-Bl.	33	14	9	6	5

Da das Lecithin sowohl als Sensibilisator wie in entgegengesetzter Richtung wirken kann, läßt sich dies am einfachsten so deuten, daß man annimmt, daß es auf die Löslichkeitsverhältnisse einwirkt. Der Eintritt der Säuren in die Blutkörperchen wird vermutlich beschleunigt, so daß die Hämolyse

stattfinden kann, bevor die Koagulation zu stark vorgeschritten ist. Dagegen verlangsamt das Lecithin den Eintritt des Saponins in die Blutkörperchen oder vermindert seine Löslichkeit darin.

Auch sehr schwache Säuren, wie Borsäure, die kaum merklich oder sehr schwach hämolytisch wirken, werden nach Lecithinzusatz sehr deutlich hämolytisch wirksam.

Sensibilisierende Wirkung von Alkoholen und Äthyläther sowie Seifen.

Das es als wahrscheinlich erschien, daß die Wirkung des Lecithins auf den Löslichkeitsverhältnissen beruht, so lag es nahe, zu prüfen, ob nicht andere Körper, welche die Löslichkeit beeinflussen könnten, eine der des Lecithins ähnliche Wirkung ausüben könnten. Ich versuchte zu diesem Zwecke Methyl- und Äthylalkohol, die in 10 %igen Lösungen verwendet wurden, und eine 6,5 %ige Äthylätherlösung. Zuerst wurde eine „Lecithinblutprobe" (7,5 ccm 1 %ige Aufschwemmung) mit 0,3 ccm einer 0,01 %igen Emulsion von Cobragift untersucht und gab folgende Resultate nach einstündiger Einwirkung bei 37° C:

Zusatz von 10 %igem Ätylalkohol ccm	1	0,4	0,15	0,05	0
Grad der Hämolyse	100	37	25	20	18
Zusatz von 10 %igem Methylalkohol ccm	1	0,4	0,15	0,05	0
Grad der Hämolyse	100	40	30	20	18
Zusatz von 6,5 %igem Äthyläther ccm		0,5	0,17	0,05	0
Grad der Hämolyse		100	50	30	18

Am kräftigsten wirkt der Äther, welcher die größte Lösungsfähigkeit für Fette besitzt. Die Alkohole sind ungefähr gleich kräftig in ihrer Wirkung, die etwa vier- bis fünfmal geringer als diejenige des Äthers ist. Die Wirkung des Saponins wird durch diese Körper merklich erniedrigt.

Bekanntlich hat Noguchi gezeigt, daß Natriumoleat ebenso wie Lecithin auf die Blutkörperchen einwirkt, wenn diese von Cobragift angegriffen werden.

Ebenso wie für das Lecithin wurde es erwiesen, daß die Wirkung mit der Berührungszeit von Blut und Natriumoleatlösung vor dem Zusatz des Cobragiftes zunimmt. Folgende Resultate wurden bei Zusatz von 0,15 ccm einer 1 %igen Oleatlösung und 0,4 ccm 0,01 %iges Cobragift, erhalten.

---

[1]) Hideyo Noguchi, Journ. of experimental medicine 9, 449, 1907.

Wirkungszeit des Oleats in Minuten	0	6	22	68
Grad der Hämolyse	25	30	70	100

Eine ähnliche Wirkung, die aber etwa 10mal schwächer war, wurde mit einer Lösung von gewöhnlicher Seife nachgewiesen.

Um die Wirkung des Natriumoleats mit derjenigen von Lecithin zu vergleichen, habe ich verschiedene Mengen von einer 0,02 % igen Oleatlösung und einer 0,01 % igen Cobragiftlösung gemischt und 7,5 ccm einer 1 % igen Blutemulsion zugesetzt, die nachher während einer Stunde auf 37° C gehalten wurde.[1]) Das Resultat war folgendes (bez. des Grades der Hämolyse):

→ Na-Oleat ccm / ↓ Cobragift ccm	1,5	1,1	0,8	0,6
0,5	100	50	20	8
0,4	90	32	18	10
0,3	75	20	12	9
0,2	40	20	8	—
0,1	27	10	8	—
0	25	8	5	2

Ähnliche Versuche wurden mit einer 0,05 % igen Saponinlösung mit folgendem Resultat ausgeführt.

→ Na-Oleat ccm / ↓ Saponin ccm	0,4	0,2	0,1	0
0,25	50	70	100	100
0,2	35	40	50	50
0,15	15	12	18	18
0	2	0	0	0

Die Wirkung ist nicht besonders kräftig, aber deutlich schwächend, ganz wie beim Lecithin.

Noguchi hat (l. c.) gefunden, daß Chlorcalcium die Wirkung des Oleates auf Cobragift stark herabsetzt. Da er das Oleat, nach der Auffassung der Frankfurter Schule bezüglich der Wirkung des Lecithins, als ein Komplement bezeichnet, so folgt daraus, daß er Calciumchlorid als „a powerful anticomple-

[1]) Vgl. Arrhenius, Immunochemie S. 156. Bei den alten Versuchen ließ man das Cobragift und das Lecithin eine halbe Stunde aufeinander vor dem Zusatz des Blutes einwirken, weil man eine Verbindung zwischen Gift und Lecithin annahm.

mentary haemolytic substance" kennzeichnen muß. Offenbar beruht die Wirkung des Calciumsalzes auf einer Ausfällung der Oleationen als schwerlösliches Calciumoleat. Ich habe die Wirkung des Calciumsalzes (in 0,1 äqu.-norm. Lösung) auf die Hämolyse durch Natriumoleat (0,1 %ige Lösung, Zusatz 0,5 ccm) untersucht. Ich fand folgende Daten:

Zusatz von 0,1 norm. $CaCl_2$ ccm	0	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5
Grad der Hämolyse	100	71	36	24	16	9

Die Natriumoleatmenge ist mit etwa 0,05 ccm der normalen $CaCl_2$-Lösung äquivalent. Die Einwirkung ist demnach eine ganz deutliche Massenwirkung. Der größte angewandte Zusatz erniedrigt die Wirkung des Oleats, so daß sie ungefähr gleich derjenigen der halben Menge (0,25 ccm) ausfällt.

Ähnliche Versuche mit ähnlichem Erfolg habe ich mit gewöhnlicher Seifenlösung ausgeführt. Da auch andere Salze, z. B. das Bariumsalz der Oel-Säure, schwerlöslich sind, habe ich Versuche mit Chlorbarium ausgeführt. Es wirkt etwas schwächer als das Calciumsalz. Dagegen fand ich keine merkliche Einwirkung des Magnesiumchlorids.[1])

Schluß. Nach dem oben Gesagten kann es wohl kaum zweifelhaft erscheinen, daß die Wirkung des Lecithins bei Säuren auf einer erhöhten Löslichkeit beruht — beim Saponin ist die Wirkung umgekehrt. Bei der Berechnung meiner Versuche über gleichzeitige Wirkung von Cobragift und Lecithin fand ich auch im Gegensatz zu den Verhältnissen bei der Bildung von zusammengesetzten Hämolysinen aus Immunkörpern und Alexinen — daß kein Verschwinden des Lecithins oder des Cobragiftes bei dem Entstehen in sehr verdünnter wässeriger Lösung der hypothetischen Verbindung von diesen beiden Körpern — dem sog. Cobralecithid — wahrzunehmen ist. Da aber die vornehmsten Autoritäten auf diesem Gebiet die Lecithinwirkung als zweifellos auf einer Bindung des Cobragiftes beruhend darstellten, habe ich damals die Sache als unentschieden hingestellt.[2]) Jetzt ist diese Stellung aber unhaltbar. Es muß wohl auch hervorgehoben werden, daß die Neutralisation des von Kyes dar-

---

[1]) Inzwischen hat Noguchi (l. c. S. 340—347) ein ähnliches „antikomplementäres" Verhalten von $BaCl_2$ bei der Einwirkung von Cobragift und Natriumoleat auf Blutkörperchen nachgewiesen.

[2]) Arrhenius, Immunochemie S. 156 und 159.

gestellten Cobralecithids durch sein Antitoxin durch eine ganz andere Kurve dargestellt wird als diejenige nach welcher die Neutralisation von Cobragift durch sein Antitoxin bei Anwesenheit von Lecithin verläuft. Die Gleichgewichtskonstanten der beiden Verbindungen sind etwa 0,25 und 0,0014.[1]) Zwar ist es nicht ganz undenkbar, daß der Tierkörper anders reagiert gegen Cobragift bei Anwesenheit von Lecithin als bei Abwesenheit desselben — nach der Darstellungsweise von Ehrlich kann man sich aber diese Tatsache schwer zurechtlegen. Es möge auch hervorgehoben werden, daß Lecithin häufig in dem Blut der injizierten Tiere vorkommt.

Auch für die Wirkung eines „antikomplementären" Körpers, nämlich Chlorcalcium, haben wir eine sehr einfache und durchsichtige Erklärung gefunden, indem dieser Körper mit dem „Komplement" Natriumoleat eine schwerlösliche Verbindung eingeht.

---

[1]) Vgl. Arrhenius, Immunochemie, S. 138 und 141.

Über die Diffusion von Kolloiden. II.

Von

R. O. Herzog und H. Kasarnowski.

(Aus dem Chemischen Institut der Technischen Hochschule in Karlsruhe.)

Vor einiger Zeit[1]) wurde über Diffusionsversuche mit kolloidalen Lösungen berichtet, deren weitere Ergebnisse hier mitgeteilt werden sollen.[2])

1. In erster Linie war gezeigt worden, daß die Diffusionskoeffizienten der untersuchten Proteine Ovalbumin, Ovomukoid, Clupeinsulfat sowie der Fermente Pepsin, Lab, Invertin, Emulsin, Trypsin-Pankreatin der Messung zugängliche physikalische Konstanten der Stoffe darstellen. Als unsicher waren nur die Werte für Clupeinsulfat und Trypsin-Pankreatin bezeichnet worden.

Die Wiederholung der fraglichen Versuche hat nun zunächst für Clupeinsulfat[3]) mit Sicherheit gezeigt, daß in dem untersuchten Präparat ein Gemisch ähnlicher Stoffe vorlag, die sich einzeln nebeneinander nicht quantitativ bestimmen ließen. Die Analyse wurde für das Stoffgemisch durch Polarisation, N-Bestimmung nach Kjeldahl und Sulfatbestimmung vorgenommen: jedesmal wurden andere Resultate für die Verteilung erzielt. Die Werte waren für die einzelnen Diffusionsschichten:[4])

---

[1]) Hauptvers. d. Deutschen Bunsenges. zu Hamburg 1907. Zeitschr. f. Elektrochem. 1907, 538. Vgl. auch Zeitschr. f. Chem. u. Ind. d. Koll. 1.

[2]) Die Versuche werden fortgesetzt.

[3]) In der ersten Mitteilung hatten wir den damaligen Versuch „mit allem Vorbehalt“ und „nur wegen der schweren Erreichbarkeit der Substanz“ reproduziert.

[4]) Auf die genaue Reproduktion der Zahlen, die ohne eingehende Beschreibung der Versuche zwecklos wäre, sei verzichtet, da ihre absoluten Werte für die hier mitgeteilten Ergebnisse keine Bedeutung haben.

Polarisation:	N-Bestimmung:	Sulfatbestimmung:
55,9	51,0	51,8
31,6	29,0	31,0
9,3	14,9	12,6
3,2	5,1	3,7
100	100	100

Man erhielt also — abgesehen davon, daß auch die Verteilung in den Diffussionschichten nicht gesetzmäßig war — dasselbe Ergebnis, das wir auch für ein Glykogenpräparat durch Polarisation vor und nach der Inversion gefunden haben.

Von besonderem Interesse war die weitere Untersuchung der „Trypsin"-Präparate. Die ersten Versuche hatten bereits gänzlich verschiedene Werte für Trypsin-Grübler und Pankreatin-Rhenania ergeben; die Deutung, daß hier gemäß den Erfahrungen E. Fischers und E. Abderhaldens[1]) ein nach Herkunft verschiedenartiges Fermentgemisch vorliege, wurde auch bereits gegeben. Die Fortsetzung unserer Versuche mit Trypsin-Grübler, Trypsin-Merck und Pankreatin-Rhenania brachte den sicheren Beleg für unsere Annahme. So erhielten wir als K-Werte[2]) (die für eine einheitliche Substanz in jedem Versuch konstant sein müssen):

Trypsin-Grübler:

54 Tage, 16° C.	40,1 Tage, 12,9° C.
0,137	0,058
—	0,045
0,099	0,056
0,108	0,097

Trypsin-Merck:

40,1 Tage, 12,9° C.
0,062
0,039
0,070
0,082

Übrigens wird die Dissertation Herrn Kasarnowskis alle Daten enthalten.

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 46, 52, 1902.

[2]) Vgl. die erste Mitteilung l. c.

Pankreatin-Rhenania:

40,1 Tage, 12,9° C.	68 Tage, 7,75° C.
0,054	0,047
0,034	—
0,060	0,050
0,094	—

Man sieht, daß die K-Werte, die zu einem Präparat gehören, nicht nur nicht konstant sind, sondern auch bei verschiedenen Versuchen einen ähnlichen „Gang" zeigen und daß das Präparat Trypsin-Merck der Zusammensetzung nach Ähnlichkeit mit Pankreatin-Rhenania aufweist.

Jedenfalls geht aus den Versuchen hervor, daß man mit Hilfe der Diffusionsbestimmung erstens erkennen kann, ob ein Gemisch ähnlicher Stoffe mit ähnlichen Diffusionskoeffizienten (also wohl auch ähnlichem Molekulargewicht) vorliegt, und zweitens, ob man es mit einem Gemisch ähnlicher Stoffe mit verschiedenen Diffusionskoeffizienten (also verschiedenem Molekulargewicht) zu tun hat. Der erste Fall liegt wahrscheinlich bei Clupeinsulfat, der zweite bei Trypsin[1]) vor. Ein Gemisch von Stoffen gleicher Molekulargröße mit nur je einer charakteristischen Eigenschaft, wie der Fall z. B. bei Pepsin-Lab liegen könnte, läßt sich natürlich nicht als solches erkennen.

2. Bei unseren ersten Versuchen war ein Einfluß der Vorgeschichte des Kolloids sowie ein solcher fremder Stoffe nicht beobachtet worden. Später haben wir ein Invertinpräparat (Merck) gefunden, das im Diffusionsgefäß gegenüber der ursprünglichen Lösung eine starke Einbuße an Wirksamkeit (50°/$_0$) erlitt, natürlich nicht etwa durch Infektion oder ähnliche Versuchsfehler veranlaßt. Die wahrscheinlichste Erklärung ist wohl, daß die Verdünnung Hysteresis, die Erscheinung des Alterns der Kolloide zur Folge hatte. Da wir bei anderen Versuchen und „hydrophilen" Kolloiden, die auch zumeist mit konzentrierten Lösungen angestellt waren, solche Erfahrungen noch nicht gemacht haben, wird man wohl in einer Reinigung des Präparates, bei der „Schutzkolloide" abgetrennt wurden, die

[1]) Es ist also wohl hoffnungsvoll, mit der Ultrafiltrationsmethode Bechholds einen Versuch nach dieser Richtung zu unternehmen.

Ursache der beobachteten Erscheinung sehen. Der oben aufgestellte Satz muß also wohl eine Einschränkung erleiden und man wird sagen müssen: Der Diffusionskoeffizient der Kolloide stellt eine physikalische Konstante dar, wenn die Lösung als stabil betrachtet werden kann.

Des weiteren soll hier noch als Ergänzung mitgeteilt sein, daß wir bis jetzt nur bei hydrophilen Kolloiden Diffusion beobachten konnten. Über die negativen Resultate bei kolloidalem Platin ist berichtet worden. Von Interesse ist vielleicht auch ein Versuch mit Berlinerblau. Nach drei Monaten war keine Diffusion wahrzunehmen, nach weiteren sechs Wochen Ausflockung eingetreten. Übrigens konnte bisher auch weder eine genügend stabile Lösung von Casein noch von Oxyhämoglobin erhalten werden.

3. Es ist naheliegend, die festgelegten Diffusionskoeffizienten zur Berechnung des Molekulargewichtes der Stoffe zu verwenden. Dafür, daß man in der Tat berechtigt ist, den osmotischen Druck — nach Nernst — als treibende Kraft der Diffusion auch der kolloidalen Lösungen anzusehen, spricht der beobachtete Temperaturkoeffizient, der dem für Kristalloide ganz nahe liegt.

Die Berechnung des Molekulargewichtes erfolgt wohl am einfachsten nach der Formel

$$M = \frac{59 \cdot 2}{K^2},$$

die aus den Versuchen Thoverts[1]) abgeleitet ist. Die Voraussetzung wäre — wenn man z. B. von der kinetischen Theorie Rieckes ausginge, — daß die mittleren Weglängen der Moleküle verschiedener Stoffe in demselben Lösungsmittel nicht wesentlich von einander abwichen, ohne Zweifel eine etwas kühne Annahme besonders bei der extremen Molekulargröße der Kolloide.

Übrigens hat auch Sutherland[2]) aus dem Stockesschen Satz eine Formel abgeleitet, die etwas höhere Werte ergibt.

Jedenfalls zeigt sich, daß die Größenordnung der mit Hilfe der Diffusionskoeffizienten berechneten Molekulargewichte[3]) mit

[1]) C. R. 133, 1197, 1901; 134, 504, 1902.

[2]) Philos. Mag. [6], 9, 781, 1906.

[3]) Freilich weiß man eigentlich nicht, ob man bei den Kolloiden überhaupt das „Molekulargewicht", wie es im allgemeinen definiert wird, bestimmt oder die mittlere Teilchengröße. Vgl. R. O. Herzog, Zeitschr. f. Chem. und Ind. d. Koll. 1907, 1.

den auf ganz anderen Wegen gewonnenen Werten übereinstimmt. Man hat also die Möglichkeit, sich mit Hilfe der Diffusion über das Molekulargewicht z. B. von Fermenten zu orientieren, wie sich Arrhenius[1]) bereits dieser Methode bedient hat, um über die Molekulargröße der Toxine und Antitoxine Aufschlüsse zu gewinnen.

Es ergeben sich die folgenden Molekulargewichte:

Ovalbumin:	17 000
Ovomukoid:	30 000
Pepsin = Lab:	13 000
Invertin:	54 000
Emulsin:	45 000

Zusammenfassung.

1. Es wird gezeigt, wie mit Hilfe der Diffusionsbestimmung Gemische ähnlicher Stoffe als solche erkannt werden können. So ergibt sich, daß Trypsin ein Fermentgemisch darstellt.

2. Der Diffusionskoeffizient der Kolloide erweist sich als physikalische Konstante, solange die Lösung stabil ist.

Diffusion der Suspensionskolloide konnte bisher nicht beobachtet werden.

3. Die mit Hilfe der Diffusionskoeffizienten berechneten Molekulargewichte stimmen der Größenordnung nach mit den auf anderen Wegen gewonnenen Resultaten überein.

---

[1]) Immunochemie 1907, 16.

Ein Beitrag zur Verwendung von citronensaurem Natron im Dienste von Untersuchungen über Phagocytose.

Von

E. Hekma.

(Aus dem Physiologischen Institut der Universität Groningen.)

Citronensaures Natron hat, namentlich in den letzten Jahren, eine vielfache Verwendung gefunden bei Untersuchungen über Phagocytose und bei Blutuntersuchungen überhaupt. Citras natricus ist bekanntlich einer derjenigen Stoffe, die, in gewissen Konzentrationen mit dem Blute gemischt, die Eigenschaft besitzen, das Blut während einer gewissen Zeit flüssig zu erhalten, die Gerinnung hinauszuschieben. Aus dem flüssig erhaltenen Blute lassen sich dann, mittels geeigneter Manipulationen, die Leukocyten sammeln und u. a. für Phagocytenuntersuchungen verwenden.

Es sind namentlich englische Forscher gewesen, die von dem citronensauren Natron zur Gewinnung von Leukocyten bzw. Phagocyten einen ausgiebigen Gebrauch gemacht haben.[1]) Wright hat sich früher auch schon darüber geäußert, inwieweit von dem zitronensauren Natron etwa ein schädlicher Einfluß auf das phagocytäre Vermögen der Leukocyten ausgeübt werden könnte. Dieser Forscher gelangt zum Schluß, daß ein für praktische Zwecke in Betracht kommender schädigender Einfluß auf Menschenblutphagocyten erst zur Geltung kommen könne in einer Konzentration von 3°/₀. Konzentrationen von 1,5 bis 1°/₀ sollen nach Wright auf das phagocytäre Vermögen der Menschen-Leukocyten überhaupt nicht oder kaum nachteilig wirken. Eben in dieser Konzentration ist ja auch das zitronen-

[1]) Wright und seine Schüler. Man vergleiche u. a. Wright and Douglas: Proc. Roy. Soc. 72, 357, 1903 und 73, 128, 1904.

saure Natron für gewöhnlich zur Verwendung gekommen. Nichtsdestoweniger hat man doch später schwächere Konzentrationen (0,5% Citronatlösung z. B.) verwendet.[1])

Inzwischen hat sich herausgestellt, daß nicht die Leukocyten aus allen Blutsorten sich dem citronensauren Natron in Konzentrationen, wie sie von Wright und anderen gebraucht werden, gegenüber in ähnlicher Weise verhalten, wie es von Wright für Menschenblutzellen konstatiert wurde. Es konnte nämlich festgestellt werden, daß eine 1- bis 2%ige Lösung von citronensaurem Natron in physiologischer NaCl-Lösung gelöst auf das phagocytäre Vermögen von Pferdeblutleukocyten einen bleibenden schädlichen Einfluß ausübt. Indem sich herausgestellt hat, daß das phagocytäre Vermögen von Pferdeblutleukocyten ganz lahmgelegt wird, wenn die Leukocyten in diesem Medium auf ihr phagocytäres Vermögen untersucht werden, konnte weiter konstatiert werden, daß eine Anzahl von Phagocyten unter den Einfluß solcher Lösungen eine bleibende Schädigung erfahren. Es zeigte sich nämlich, daß eine Anzahl von Leukocyten ihr phagocytäres Vermögen eingebüßt hatte, nachdem die Zellen während einer gewissen Zeit in einer 1- bis 2%igen Lösung von citronensaurem Natron in physiologischer Kochsalzlösung verweilt hatten und dann, nach mehrmaligem Auswaschen in eine 0,9%ige NaCl-Lösung, in letzteres Medium auf ihr phagocytäres Vermögen geprüft wurden.[2])

Die eben erwähnten Untersuchungen wurden angestellt u. a. mit dem Zwecke, zu prüfen, ob man in einer 1- bis 2%igen Lösung von Citras natricus in physiologischer NaCl-Lösung ein geeignetes Mittel erblicken dürfte zur Sammlung von Leukocyten, bzw. Phagocyten, aus Pferdeblut. Es wurde nämlich von uns nicht verkannt, daß die Citratmethode gewisse Vorteile bietet gegenüber der von uns bis jetzt immer befolgte Methode. Bei unseren bis jetzt vorliegenden Untersuchungen über die physiologische Phagocytose wurden immer die Leukocyten bzw. Phagocyten gesammelt aus defibriniertem Pferdeblut mittels fraktionierter Sedimentation, eine Methode

---

[1]) Man vergleiche u. a.: Sauerbeck, Lubarsch-Ostertags Ergebnisse **11**, sowie auch J. G. Sleeswijk: Phagocytose en Opsoninen. Doktordissertation, Amsterdam 1908.

[2]) Hamburger und Hekma, diese Zeitschr. **9**, 289, 1908.

von Leukocytensammlung, die von Hamburger schon früher ausgearbeitet und verwendet worden ist.[1])

Die Vorteile, welche die Citratmethode bietet, sind u. a. folgende:

1. Man bekommt aus einer gewissen Quantität Blut viel mehr Leukocyten, als man erhalten kann aus defibriniertem Blut, weil beim Prozeß der Defibrinierung bekanntlich eine Anzahl von Leukocyten zugrunde gehen.

2. Die roten Blutzellen sinken sich in einem Gemisch von Citrat-NaCl-Lösung und Blut schneller und namentlich vollständiger als in einer Blutzellen-Serum Suspension.

Überläßt man nämlich das Blut-Citrat-NaCl-Gemisch sich selbst während einer gewissen Zeit, dann sammeln sich die roten Blutzellen in einer unteren Schicht, während die Formelemente in der oberen Schicht fast ausschließlich weiße Blutzellen (und Blutplättchen!) sind.

Aus letzter Schicht lassen sich dann die Leukocyten mittels Zentrifugierens schnell und fast rein gewinnen. Aus defibriniertem Pferdeblut erhält man zwar ebenfalls schließlich die Leukocyten mittels fraktionierten Zentrifugierns bzw. Sedimentierens genügend rein (d. h. ohne daß allzuviel rote Zellen vorhanden sind), es nimmt jedoch die Gewinnung der Leukocyten nach dieser Methode ziemlich viel Mühe und namentlich Zeit in Anspruch.

Indem also die Citratmethode prinzipiell zweifellos Vorteile bietet, stehen infolge des Umstandes, daß die Pferdeblutphagocyten von der gebräuchlichen Citratlösung nicht unbedeutend geschädigt werden, einer allgemeinen praktischen Verwendung dieser Methode für phagocytäre Untersuchungen Schwierigkeiten in dem Weg.

Es schien mir, angesichts der Tatsache, daß die Citratmethode im Prinzip gewisse Vorteile bietet und daß diese Methode bei Untersuchungen über die „bakterielle" Phagocytose eine so ausgedehnte Verwendung findet, der Mühe wert den Einfluß von Citratlösungen auf das phagocytäre Vermögen einer systematischen Untersuchung zu unterwerfen. — Es wurde dabei vor allem das Ziel gestellt, zu prüfen, ob sich eine Citratkonzentration auffinden lassen würde, von welcher einerseits

[1]) H. J. Hamburger, Osmot. Druck- und Ionenlehre 1, 401.

das phagocytäre Vermögen der Leukocyten nicht bleibend geschädigt werden würde, während andrerseits die Blutgerinnung sich von einer solchen Konzentration genügend lange Zeit hinausschieben lassen würde.

In den folgenden Zeilen wird über solche, mit Erfolg angestellte Versuche, Pferdeblutleukocyten betreffend, berichtet werden.

Es sei vorausgesetzt daß, wo in den folgenden Zeilen von einer Citratlösung die Rede sein wird, immer eine Lösung von citronsaurem Natron in physiologischer Kochsalzlösung gemeint ist. Die Verwendung von reiner Citratlösung (d. h. also ohne daß das Citrat in physiologischer NaCl-Lösung gelöst sein würde) ist für die Sammlung von Leukocyten ungeeignet. Würde man z. B. das Blut auffangen in einer reinen, niedrig konzentrierten Citratlösung, dann würden die Blutzellen, und zwar sowohl, die weißen als die roten Zellen, geschädigt bzw. zerstört werden. Die Zerstörung der roten Blutzelle würde sich bekanntlich anzeigen durch eine auftretende Hämolyse. Die weißen Zellen würden ebenfalls stark geschädigt werden, Es würden die Leukocyten eine Schädigung bzw. Aufhebung ihres phagocetären Vermögens erfahren. Die Grade der Schädigungen, welche das phagycetäre Vermögen der Leukocyten erfährt unter dem Einfluß von Wasserzusatz bzw. Zusatz von niedrig konzentrierten Salzlösungen an der Blutflüssigkeit lassen sich eben sehr schön studieren unter Zuhilfenahme von der physiologischen Phagacytose.[1])

Zur Lösung der gestellten Aufgabe wurde an erster Stelle die Minimumkonzentration der Citratlösung bestimmt, von welcher die Gerinnung des Blutes genügend lange Zeit hinausgeschoben wurde, um die Leukocyten in leichter Weise sammeln zu können. Für diesen Zweck wurde eine Serie von Citratlösungen in physiologischem NaCl angefertigt, in welchem 0,2 bis 1°/₀ citronsaures Natron vorhanden war. In 50 ccm jeder dieser Lösungen wurden 50 ccm Blut aus der Halsvene eines Pferdes spritzend, aufgefangen. Die Citrat-NaCl-Blutgemische usw. wurden sämtlich an einen kühlen Ort gestellt und von Zeit zu Zeit kontrolliert, ob in den Flüssigkeiten Gerinnung auftrat

[1]) Man vergleiche hierzu: Hamburger und Hekma, Quantitative Studien über Phagocytose. I. u. II. Diese Zeitschr. 3, 88, 1907 und 7, 102, 1908.

oder nicht.[1]) Das Resultat einer solchen Versuchsreihe findet man in der Tabelle I zusammengestellt.

Tabelle I.

Gemische	Gerinnnung
1. 50 ccm Pferdeblut + 50 ccm 0,1 % Natriumcitrat in 0,9 % NaCl	In kurzer Zeit.
2. 50 ccm Pferdeblut + 50 ccm 0.2 % Natriumcitrat in 0,9 % NaCl	Nach einigen Stunden.
3. 50 ccm Pferdeblut + 50 ccm 0,3 % Natriumcitrat in 0.9 % NaCl	Nach einigen Stunden.
4. 50 ccm Pferdeblut + 50 ccm 0,4 % Natriumcitrat in 0,9 % NaCl	Nach 12 Stunden noch keine Gerinnung, in 24 Stunden Gerinnung.
5-10. 50 ccm Pferdeblut + 50 ccm 0,5 % bis 1 % Natriumcirat in 0,9 % NaCl	Nach 24 Stunden noch keine Gerinnung.

Es stellte sich also heraus, daß eine Citratlösung von 0,4 % in NaCl 0,9 % mit einem gleichen Teile Blut gemischt, genügte, um das Blut während 12 Stunden flüssig zu erhalten. In dem Gemische, in welchem 0,1 bis 0,3 % NaCl-Lösung einer gleichen Menge Blut zugefügt wurde, trat innerhalb 12 Stunden Gerinnung ein. Obwohl auch schon in den Gemischen 2 und 3 (Tab. I) starke Gerinnung, während ein bis mehreren Stunden ausblieb, werde ich diese Mischungen außer Betracht lassen, weil sich bei den mikroskopischen Untersuchungen zeigte, daß schon bald in diesen feine Fädchen aufgetreten waren. Und wo solche feine Fädchen sich finden, macht es Schwierigkeiten, die Leukocyten einzeln zu gewinnen, die Fädchen sind nämlich oft sehr schwer auszuwaschen und sind die Ursache, daß die Leukocyten zusammenballen, was für die später mit den Zellen beabsichtigten Unter-

[1]) Es sei hier beiläufig bemerkt, daß man die ersten Spuren des Eintretens der Gerinnung in solchen Citratmischungen mikroskopisch feststellen und verfolgen kann, lange bevor die Gerinnung in dem Maße stattgefunden hat, daß sie ohne weiteres deutlich ist. Man hat zu diesem Zweck bloß von Zeit zu Zeit einen Tropfen aus der obenstehenden weißen Schicht (wie schon hervorgehoben, teilt sich die Pferdeblut-Citrat-NaCl-Mischung bald in eine untere rote, und in eine obere weiße Schicht) auf einen Objektträger zu bringen und unter dem Mikroskop zu besichtigen, Man sieht dann äußerst feine Fädchen als die ersten Anzeichen des Anfangs der Gerinnung.

suchungen, mit Namen für die Zählung der Phagocyten, unerwünscht ist.

In einer 0,4 °/₀igen Citrat-NaCl-Lösung. gemischt mit der gleichen Quantität Blut, bleibt die Bildung solcher Fädchen während mehrerer Stunden aus. Dadurch hat man reichlich Gelegenheit, die obere weiße leukocytenreiche Schicht abzupipettieren, bevor eine Spur von Gerinnung eingetreten ist. Überläßt man diese Mischung länger als 12 Stunden sich selbst, dann tritt schließlich doch Gerinnung ein. Das Citrat hat eben nur die Eigenschaft, der Gerinnung während einer gewissen Zeit vorzubeugen, nach längerem Stehen tritt schließlich doch Gerinnung ein.

Aus der eben erwähnten abgehobenen weißen Suspension lassen sich nun die Leukocyten mittels Zentrifugierens leicht in reinem Zustande sammeln. Man hat nur dafür Sorge zu tragen, daß man jemals kurz zentifugiert, weil sonst zuviel Blutplättchen mit nach dem Boden geschleudert werden. Beim erstmaligen Zentifugieren werden freilich immer eine Anzahl von Blutplättchen zu gleicher Zeit sedimentiert, diese lassen sich jedoch durch nachfolgendes Auswaschen leicht entfernen.

In dem Gemisch von 0,4 °/₀ Citras natricus in 0,9 °/₀ NaCl mit einem gleichen Teile Blut war also das citronsaure Natron vorhanden in einer Konzentration von 0,2 °/₀.

Es mußte nunmehr des weiteren untersucht werden, in wieweit eine 0,2 °/₀ige Lösung von citronsaurem Natron in physiologischer NaCl-Lösung für das phagocytäre Vermögen von Pferdeblutleukocyten indifferent sein würde.

Um diese Frage zu lösen, wurde erstens das phagocytäre Vermögen solcher Leukocyten untersucht, in dem Medium einer 0,2 °/₀ Citratlösung in 0,9 °/₀ NaCl selbst.

Und zweitens wurde das nämliche Vermögen geprüft, nachdem die Leukocyten, indem sie während einer gewissen Zeit in einer 0,2 °/₀ Citrat-NaCl-Lösung verweilt hatten, mit einer physiologischen Kochsalzlösung mehrmals ausgewaschen und in letzterer Lösung weiterhin belassen worden war.

Zur Kontrolle wurde zu gleicher Zeit auch das phagocytäre Vermögen solcher Leukocyten untersucht, welche von Anfang an mit einer physiologischen Kochsalzlösung versetzt worden waren. Es wurde dafür Sorge getragen, daß in allen drei Fällen

die Leukocyten übrigens unter genau denselben Umständen gebracht wurden, wie ja auch aus den folgenden Zeilen hervorgeht.

Selbstredend dürften für diese Versuche nicht solche Leukocyten verwendet werden, welche aus Citratblut gesammelt worden waren. Die für diese Experimente gebrauchten Leukocyten waren aus defibriniertem Pferdeblut gewonnen und in der gewöhnlichen Weise mittels fraktionierter Sedimentation gesammelt. Es wurde dafür gesorgt, daß für jede Probe die Leukocyten gesammelt wurden aus einer gleichen Menge Blut, bzw. Leukocyten-Serum-Suspension.

Es wurde dann weiter in folgender Weiser experimentiert: Die Leukocyten wurden zusammengebracht mit:

1. Eine 0,2°/₀ige Lösung von citronensaurem Natron in physiologischer Kochsalzlösung (Suspension A).

2. Ebendieselbe Lösung (Suspensin B).

3. Eine physiologische Kochsalzlösung (Suspension C).

Alle 3 Suspensionen wurden an einen kühlen Ort gestellt. Nach einer gewissen Zeit (Tabelle II bezieht sich auf eine Probenserie, in welcher die Suspensionen 17 Stunden aufbewahrt wurden) wurden sämtliche Suspensionen zentrifugiert.

An die Leukocyten aus der Suspension A wurde wie früher eine 0,2°/₀ige Citratlösung in 0,9°/₀ NaCl hinzugefügt.

An die Leukocyten aus der Supension B wurde anstatt der Citrat-NaCl-Lösung eine physiologische NaCl-Lösung hinzugefügt.

An die Leukocyten aus der Suspension C wurde wie früher eine physiologische NaCl-Lösung hinzugefügt.

Nachdem die Leukocyten mit den zuletzt erwähnten Flüssigkeiten zweimal ausgewaschen worden waren, wurden sie in diesen auf ihr phagocytäres Vermögen untersucht. In der Tabelle II (S. 184) wird eine solche Versuchsserie vorgeführt.

Aus dieser Tabelle geht hervor, daß das phagocytäre Vermögen derjenigen Leukocyten, welche in einer 0,2°/₀igen citronensauren Natronlösung in 0,9°/₀ NaCl (1) sich befanden, gegenüber dem phagocytären Vermögen der Leukocyten der Kontrollflüssigkeit (3) nicht unbedeutend zurückgeblieben war. Dem entgegen war zwischen dem phagocytären Vermögen der Leukocyten die, nachdem sie während 17 Stunden in einer 0,2°/₀igen citronen-

Tabelle II.

Die Leukocyten waren während 17 Stunden belassen worden in:	Nach 12 Stunden wurden die Leukocyten in 1, 2 u. 3 ausgewaschen mit und untersucht resp. in:	Kohle enthaltende Leukocyten
1. Eine 0,2 $^0/_0$ ige citronensaure Natronlösung in 0,9 $^0/_0$ NaCl.	Eine 0,2ige zitronensaure Natronlösung in 0,9 $^0/_0$ NaCl.	$\frac{297}{792} = 37{,}5\,^0/_0$
2. Eine 0,2 $^0/_0$ ige citronensaure Natronlösung in 0,9 $^0/_0$ NaCl.	Eine 0,9 $^0/_0$ ige NaCl-Lösung.	$\frac{348}{726} = 48\,^0/_0$
3. Eine 0,9 $^0/_0$ ige NaCl-Lösung (Kontrolle)	Eine 0,9 $^0/_0$ ige NaCl-Lösung.	$\frac{344}{700} = 49\,^0/_0$

sauren Natronlösung in 0,9 $^0/_0$ NaCl verweilt hatten, ausgewaschen worden waren mit und untersucht in einer 0,9 $^0/_0$ igen NaCl-Lösung (2), und das phagocytäre Vermögen derjenigen Leukocyten, die von Anfang an in eine 0,9 $^0/_0$ ige NaCl-Lösung (3) gebracht worden waren, kein Unterschied zu konstatieren.[1]) Daraus ergibt sich also, daß das phagocytäre Vermögen einer Anzahl von Leukocyten unter dem Einflusse einer 0,2 $^0/_0$ igen Citratlösung in physiologischem Kochsalz lahmgelegt wird, daß jedoch die Zellen dieses Vermögen vollständig zurück bekommen, wenn sie in eine physiologischen NaCl-Lösung übergeführt werden.

Es ist mit anderen Worten der schädigende Einfluß einer 0,2 $^0/_0$ igen Citrat-NaCl-Lösung ein vorübergehender, kein bleibender.

Ich habe dieses Experiment mehrmals wiederholt mit Abänderung der Dauer der Einwirkung der Citratlösung, das Resultat war immer ein ähnliches. Ich kann noch hinzufügen, daß ich die Experimente auch in der Weise variiert angestellt habe, daß das Verhältnis der Blutmenge und der Menge der Citratlösung eine andere war. Dabei hat sich u. a. herausgestellt, daß das Pferdeblut auch schon von niedrigeren Citrat-

---

[1]) Unterschiede von 1 $^0/_0$ fallen innerhalb der Grenzen der Versuchsfehler.

NaCl-Lösungen als die in Rede stehende flüssig erhalten werden kann, wenn man der Citratlösung nur weniger Blut hinzufügt.

Weil jedoch eine Konzentration von 0,2 % Citrat praktisch für alle Fälle genügt, dürfte die Mitteilung von den erwähnten Experimenten überflüssig sein.

Es scheint mir, daß man in dem beschriebenen Verfahren gewissermaßen eine ideale Methode besitzt für die Sammlung von Leukocyten aus Pferdeblut, sei es für Untersuchungen über die „physiologische" oder die „bakterielle" Phagocytose oder für andere Zwecke.

Es würde sich zweifellos auch für andere Blutsorten eine ähnliche ideale Methode für die Leukocytensammlung auffinden lassen. Nur müßte die Technik der Methode in einigen Punkten etwas abgeändert werden, weil die Schichtung der Formelemente in anderen Blutsorten bekanntlich nicht so leicht zustande kommt, wie es im Pferdeblut der Fall ist.

Das Hauptresultat dieser Untersuchung läßt sich folgendermaßen zusammenfassen:

1. Das Pferdeblut läßt sich während einer für die Leukocytensammlung genügend langen Zeit flüssig erhalten, wenn das Blut aufgefangen wird in einer gleichen Menge einer 0,4 %igen Lösung von citronensaurem Natron in physiologischer Kochsalzlösung, so daß also das Citrat in dem Gemisch in einer Konzentration von 0,2 % vorhanden ist.

2. Das phagocytäre Vermögen der Pferdeblutleukocyten bleibt ganz intakt, wenn die Leukocyten, nachdem sie, indem während einer gewissen Zeit eine 0,2 %ige Citratkochsalzlösung auf sie eingewirkt hat, in physiologischer Kochsalzlösung ausgewaschen werden und in letzterer Lösung zur Verwendung kommen.

Es ist mir eine Freude, unserm Jubilar, meinem hochverehrten langjährigen Chef, diesen kleinen Beitrag widmen zu dürfen.

Die Abschwächung der Antigene durch Erwärmung.

(Vibriolysin, Tetanolysin, Ziegenserum-Hämolysin.)

Von

L. W. Famulener und Thorvald Madsen.

Mit 1 Figur im Text.

(Aus Statens Seruminstitut in Kopenhagen.)

Eine der charakteristischen Eigentümlichkeiten der Antigene ist ihre große Empfindlichkeit gegen Erwärmung.

In Lösung verlieren die meisten ihre spezifischen Eigenschaften durch Erwärmung auf Temperaturen zwischen 50° und 80°.

Trotzdem, daß diese Thermolabilität eine der wenigen bisher bekannten positiven Kennzeichen der Antigene ist, ist sie doch bisher niemals rationell untersucht worden.

Bisweilen wird angegeben, daß die Destruktionstemperatur eines Antigens eine gewisse Höhe hat, oder daß ein Antigen durch halbstündige Erwärmung auf eine gewisse Temperatur abgeschwächt wird.

Es ist doch klar, daß es sich hier um eine Reaktionsgeschwindigkeit handelt, indem die Abschwächung eine Funktion der Temperatur und der Zeit ist, und außerdem von einer ganzen Reihe anderer Faktoren abhängig ist.

Wir haben uns vorgenommen, diese Reaktionsgeschwindigkeit in der in der physikalischen Chemie üblichen Weise näher zu untersuchen und haben dazu 3 Hämolysine gewählt, das Vibriolysin, das Tetanolysin und das Ziegenserum, das auf Kaninchenblutkörperchen kräftig auflösend wirkt.[1])

---

[1]) Einige von unseren Resultaten sind schon gelegentlich der 72nd Annuel Meeting of The British Medical Association, Oxford, Juli 1904 (Discussion on immunity) und in der Dänisch. Biol. Ges. zu Kopenhagen, Mai 1905, veröffentlicht.

Das Vibriolysin ist zuerst von Kraus aufgefunden und in einer Reihe von Abhandlungen[1]) näher studiert worden. Unser Präparat ist mittels einer uns von Herrn Prof. Dr. R. Kraus freundlichst überlassenen Kultur von Vibrio Nasik dargestellt worden. Als Nährboden diente gewöhnliche Bouillon (500 g Ochsenfleisch, 1000 gr Wasser, 10 g Wittepepton und 5 g NaCl) mit Zusatz von 22—25 ccm Normalnatron pro Liter.

In diesem Substrat produziert der Vb. Nasik nach dreiwöchigem Stehen bei 37^0 kräftiges Hämolysin. Die Kultur wird dann mit Toluol gründlich geschüttelt und bewahrt bei 2—4^0 lange Zeit hindurch seine blutlösende Fähigkeit ungeändert.

Die Messung wurde in der im hiesigen Institut üblichen Weise an einer 1$^0/_0$ Aufschwemmung von Pferdeblutkörperchen in 1$^0/_0$ NaCl-Lösung angestellt. Soll die Wirkung von einer Reihe von Vibriolysinlösungen untereinander verglichen werden, so wird zu jeder eine Reihe Reagensgläser verwendet. In diesen werden abnehmende Mengen Vibriolysinlösung und so viel physiologischer Kochsalzlösung abgemessen, daß das Volumen in allen Röhrchen konstant wird;[2]) endlich werden mit einer genau kalibrierten Spritze 8 ccm der 1$^0/_0$ Pferdeblutaufschwemmung in kräftigem Strahl schnell zugefügt. Die Röhrchen werden sodann energisch durchgeschüttelt und dann alle in ein Wasserbad bei 36—37^0 gebracht; nach 2$^1/_2$ Stunden ist die Reaktion zwischen Blutkörperchen und Vibriolysin beendet, wonach die Röhrchen nachtsüber bei niedriger Temperatur gehalten werden. Am nächsten Tag, wenn die nicht gelösten Blutkörperchen sich zu Boden gesetzt haben, wird colosimetrisch gemessen, in welchem Grade die verschiedenen Vibriolysinlösungen hämolysierend gewirkt haben.[3])

Die ersten orientierenden Versuche über die Bedeutung

[1]) Kraus, Über Hämolysine und Antihämolysine. Wiener klin. Wochenschrift 1900, 1901. Kraus und Lipschütz. Zeitschr. f. Hygiene, 46, 1904.

[2]) Es ist praktischer, diese Manipulationen in umgekehrter Reihenfolge auszuführen; erst NaCl-Lösung, dann Vibriolysinlösung.

[3]) Näheres über die hämolytische Technik s. Madsen, Allgemeines über bakterielle Antigene-Toxine, deren Antikörper antitoxische Eigenschaften aufweisen, in Kraus-Levaditi, Handb. d. Technik u. Methodik d. Immunitätsforschung 1, 57.

der Erwärmung lehrten, daß unterhalb 43—44° keine merkbare Abschwächung hervorgebracht wurde, während schon bei 50° beinahe momentan jeder hämolytische Effekt verloren gegangen war.

Sodann wurde die Abschwächung bei einer Reihe von Temperaturen zwischen 45° und 50° untersucht. Das Verfahren war folgendes:

100 ccm Vibriolysin wurden in einem großen, alkalifreien Reagensglas abgemessen, das mit einem 3mal durchbohrten Stopfen geschlossen war. In der einen Durchbohrung findet sich eine Pipette, deren Spitze in die Flüssigkeit taucht und deren anderes Ende mit einem mittels eines Quetschhahns geschlossenen Gummischlauchs versehen ist. Hierdurch kann man schnell und ohne Fehler (durch Abkühlung und Verdampfung) dem Reagensrohre Proben der Flüssigkeit entnehmen.

In die andere Durchbohrung ist ein Rührer angebracht, wodurch die Temperatur der Flüssigkeit überall gleichartig gehalten werden kann, und in der dritten Öffnung befindet sich ein Beckmannsches Thermometer, dessen Stand bei jeder Probeentnahme abgelesen wird.

Das Reagensglas wird in ein mit Toluolregulator versehenes Wasserbad gestellt; die Temperaturen der zu untersuchenden Flüssigkeit schwanken nicht mehr als $^{1}/_{100}$ Grade.

Wenn das Vibriolysin die Versuchstemperatur erreicht hatte, wurden Proben herausgenommen, die schnell in Eiswasser abgekühlt wurden. Hierdurch wird, wie aus dem Folgenden hervorgeht, die Reaktionsgeschwindigkeit auf einen verschwindend kleinen Betrag herabgesetzt.

Die Proben wurden im Kühlraum (+2°) aufgehoben; später wurde dann gleichzeitig die hämolytische Fähigkeit sämtlicher Proben miteinander verglichen.

Als Beispiel sei folgender Versuch bei 48,15° angeführt. Es wurden 8 Proben genommen, die erste kurz nachdem das in der Vibriolysinlösung eingetauchte Thermometer 48,15° zeigte. Dieser Zeitpunkt diente als Ausgangspunkt der Zeit, $t_1 = 0$. Die folgenden Proben wurden dem Reagensrohr mit 10 Minuten Interval, bis 70 Minuten entnommen. Nach einem Vorversuch wurde der Vergleich von der hämolytischen Fähigkeit dieser Proben in der Weise vorgenommen, daß man für jede Probe

eine Reihe Reagensröhrchen mit Blutaufschwemmung benutzte, wozu die in Tabelle 1 angegebenen Dosen gefügt wurden.[1])

Tabelle I.

Schwächung des Vibriolysins bei 48.15°.

Dosis in ccm	0	10	20	30	40	50	60	70 Min.
0,60								○
0,50							>×	
0,40								
0,35								
0,30								□
0,25						⩾×	⩾○	
0,20							⩾□	
0,17						○		
0,15					×	□		
0,13								
0,10				⩾×	○			
0,08					>×			
0,06				○				
0,05			×					
0,04			○	□				
0,035		≧×						
0,030		○						
0,025			≧□					
0,020	≧×							
0,017		⩾□						
0,015								
0,013	≧○							
0,010	□							

Es wurde dann gefunden, daß die hämolytische Wirkung für alle mit × bezeichneten Dosen dieselbe war. In diesen Röhrchen war also die Farbennuance des gelösten Hämoglobins dieselbe. In solchen Fällen, wo diese nicht gleich jener der Röhrchen, aber zwischen zwei solchen gefunden wurde, bestimmte man die entsprechende Dosis durch Schätzung. In ähnlicher Weise wurde ein Vergleich zwischen 2 schwächeren Farbennuancen ○ und □ durchgeführt.

---

[1]) Madsen, l. c.

Tabelle 2.

Zusammenstellung von Tabelle 1.

t (Zeit) Min.	⨯ (ccm)	Toxicität	○ (ccm)	Toxicität	□ (ccm)	Toxicität	Mittel von allen Toxicitäten
0	0,0175	57	0,0135	74	0,01	100	100
10	0,034	29	0,03	33	0,016	63	53
20	0,050	20	0,04	25	0,027	37	35
30	0,095	10,5	0,06	16,7	0,04	25	22
40	0,15	6,7	0,10	10	0,09	11,1	12,1
50	0,23	4,4	0,17	5,9	0,15	6,7	7,4
60	0,45	2,2	0,23	4,4	0,19	5,3	5,0
70			0,60	1,7	0,30	3,3	2,7

Die Resultate sind in Tab. 2 zusammengestellt. Die reziproken Werte geben in übersichtlicher Weise die Toxicitäten (die hämolytischen Fähigkeiten) in willkürlichen Einheiten ausgedrückt an.

Aus diesen drei Beobachtungsreihen ist dann eine mittlere Toxicität gebildet, indem die Bestimmung für $t = 0$ auf 100 umgerechnet ist.[1])

In dieser Weise kann die prozentuale Abschwächung mit der Zeit verfolgt werden.

Diese Reaktionsgeschwindigkeit läßt sich mit guter Annäherung durch die Gleichung $-\frac{dp}{dt} = Kp$ ausdrücken, wo p die Toxicität zur Zeit t ist, und wo die Konstante K die Reaktionsgeschwindigkeit angibt.

In Tabelle 3 sind unter p calc. die nach der erwähnten Gleichung und mit $K = 0{,}0225$ berechneten Werten angegeben.

Tabelle 3.

t (Min.)	p obs.	p calc.
0	100	100
10	53	59,6
20	35	35,7
30	22	21,1
40	12,1	12,6
50	7,4	7,5
60	5,0	4,5
70	2,7	2,7

$K = 0{,}0225$

[1]) Ein Mittel aus drei solchen Ablesungen darf selbstverständlich nur dann gebildet werden, wenn, wie hier, Proportionalität zwischen Dosis und

Eine sehr große Anzahl von Versuchen, unter verschiedenen Verhältnissen ausgeführt, zeigte, daß die Abschwächung des Vibriolysins durch Erwärmen immer diesem Gesetze folgte. Die Abweichungen waren niemals über 25 %; sie waren durchschnittlich zwischen 6 % und 7 %.

Diese Gleichung ist dieselbe, die für die sog. monomolekularen Reaktionen charakteristisch ist, wo nur ein Molekül reagiert, oder wo — wie bei der Rohrzuckerinversion, wo der Rohrzucker unter Aufnahme von Wasser in Lävulose und Dextrose gespalten wird — das eine reagierende Molekül, das Wasserstoffion, so schnell zurückgebildet wird, daß seine Konzentration als unabhängig vom Fortschritt der Reaktion angesehen werden kann.

Es ist selbstverständlich noch ganz unmöglich zu entscheiden, ob es sich bei der Vibriolysinabschwächung um einen hydrolytischen Prozeß handelt. Was hierauf deuten könnte, ist die Tatsache, daß die Toxine ebenso wie die Fermente in trockenem Zustande bedeutend besser als im feuchten eine Erhitzung ertragen.

Um den Einfluß verschiedener Temperaturen zu eruieren, wurden die in Tabelle 4 wiedergegebenen Versuche angestellt. Höhere Temperaturen als 49,975° kamen nicht in Betracht, da die Abschwächung zu schnell vollendet wurde. Der niedrigste Wärmegrad war 45,145°.

Tabelle 4.

Abschwächung des Vibriolysins bei verschiedener Temperatur.

49,975°			49,75°			49°		
t (Min.)	p obs.	p calc.	t (Min.)	p obs.	p calc.	t (Min.)	p obs.	p calc.
0	100	96,6	0	100	100	0	100	106
5	39,4	39,6	10	23	22	10	53	43,3
10	13,8	16	20	4,3	4,9	20	17,6	17,6
15	7,1	6,6	$K = 0,066$			30	7,0	7,1
20	2,2	2,7				40	3,1	2,9
$K = 0,0778$						50	1,2	1,2
						$K = 0,0391$		

hämolytischer Wirkung existiert. Andernfalls ist die Hämolyse bisweilen annäherungsweise dem Quadrat der Vibriolysinkonzentration proportional.

48,15°

t (Min.)	p obs.	p calc.
0	100	100
10	53	59,6
20	35	35,7
30	22	21,1
40	12,1	12,6
50	7,4	7,5
60	5,0	4,5
70	2,7	2,7

$K = 0{,}0225$

48,08°

t (Min.)	p obs.	p calc.
0	100	85
5	68	64,7
10	43	49,3
15	37	37,2
20	29	28,5
25	20	21,7
30	17,3	16,5
35	12,5	12,6
40	10	9,6
50	5	5,5
55	4	4,2
60	3,3	3,2
65	2,8	2,4
70	1,6	1,8

$K = 0{,}0236$

47,035°

t (Min.)	p obs.	p calc.
0	100	89,7
10	74	65,8
20	48	48,4
30	35	35,5
40	27	26,1
50	17,4	19,1
60	12,5	12,9
70	8,7	10,3
80	7,0	7,6
90	4,8	5,6
100	3,5	4,1
110	2,9	3,0
120	2,5	2,2
135	1,7	1,4
150	1,1	0,9

$K = 0{,}0134$

46,4°

t (Min.)	p obs.	p calc.
0	100	100
10	78	83,2
20	68	69,5
30	59	57,9
40	49	48,3
50	41	40,4
60	34	33,6
70	25	28,1
80	23	23,3

$K = 0{,}0079$

45,97°

t (Min.)	p obs.	p calc.
0	100	100
15	77	80,4
30	73	64,9
45	54	52,2
60	41	42,2
75	34	33,9
90	27	27,4
105	22	22,1
120	17,6	17,8
135	12,6	14,4
150	10,9	11,6
165	8,2	9,3

45,97°

t (Min.)	p obs.	p calc.
180	6,5	7,5
195	5,4	6,1
225	3,6	4,0
240	3,3	3,2
255	2,6	2,6
270	2,2	2,1
285	1,9	1,7
300	1,6	1,3
315	1,1	1,1
330	0,8	0,88
345	0,7	0,71
360	0,65	0,57

$K = 0{,}00625$

45,65°

t (Min.)	p obs.	p calc.
0	100	100
10	87	87,5
20	66	76,7
30	59	67,1
40	55	58,9
50	51	51,5
60	45	45,2

45,145°

t (Min.)	p obs.	p calc.
0	100	100
15	92	88,1
30	75	77,8
45	67	68,7
60	60	60,7
75	54	53,6
90	46	47,2

45,65°			45,145°		
t (Min.)	p obs.	p calc.	t (Min.)	p obs.	p calc.
70	40	39,6	105	40	41,7
80	34	34,7	120	37	36,9
90	30,6	30,4	135	33	32,5
100	26,6	26,6	150	27	28,7
115	23,7	21,8	165	25	25,4
130	22,1	17,9	180	24	22,4
$K = 0{,}00575$			195	22	19,8
			210	17,2	17,5
			225	17,2	15,5
			240	16	13,7
			$K = 0{,}0036$		

Alle diese Reaktionsgeschwindigkeiten lassen sich, mit einer Abweichung von durchschnittlich 6 bis 7%, nach der monomolekularen Formel berechnen.

Die Werte sind unter p calc. angeführt. In einigen Versuchen finden sich bei den höchsten Werten der Lysinstärke Abweichungen zwischen den beobachteten und berechneten Zahlen, was man ja in der physikalischen Chemie nicht selten findet, wo es sich um Reaktionsgeschwindigkeiten handelt.

In einigen Fällen ist die Erklärung wahrscheinlich die, daß das Lysin nicht durch und durch die Reaktionstemperatur hatte in dem Augenblick, wo die ersten Proben dem Rohre entnommen wurden.

Selbst wenn die Abschwächung bis unter 1% fortgesetzt wird, folgt die Reaktionsgeschwindigkeit doch durchweg demselbem Gesetze. Die Reaktionsprodukte scheinen somit keinen Einfluß auf die Geschwindigkeit auszuüben.

Aus der Tabelle geht hervor, wie kolossal die Reaktionsgeschwindigkeit K mit der Temperatur ansteigt, indem sie von 0,0036 bei 45,145° auf 0,0778 bei 49,975° erhöht wird.

Für die Abhängigkeit der Reaktionsgeschwindigkeit von der Temperatur hat Arrhenius folgende Formel angegeben:

$$\frac{K_1}{K_2} = e^{\frac{\mu}{2}\left(\frac{T_1 - T_2}{T_1 T_2}\right)}.$$

Hier bedeuten K_1 und K_2 die Reaktionsgeschwindigkeiten bei den Temperaturen T_1 und T_2; T_1 und T_2 die absoluten Temperaturen, und μ eine Konstante.

In Tabelle 5 sind die Versuchstemperaturen und die entsprechenden Reaktionsgeschwindigkeiten aus Tabelle 4 zusammengestellt.

Tabelle 5.

Zusammenfassung von Tabelle 4.

Temp.	K (obs.)	K (calc.)
49,975°	0,0778	0,0741
49,75°	0,066	0,0656
49°	0,0391	0,041
48,15°	0,0225	0,024
48,08°	0,0236	0,023
47,035°	0,0134	0,0128
46,4°	0,0079	0,00811
45,97°	0,00625	0,00618
45,65°	0,00575	0,00505
45,145°	0,0036	0,0036
	$\mu = 128570$	

Diese Werte folgen mit großer Annäherung der erwähnten Gleichung. In der dritten Kolonne sind unter K (calc.) die berechneten Werte wiedergegeben. Die hieraus abgeleitete Konstante μ ist 128570. Diese Zahl ist sehr groß. Als Vergleich sei angeführt, daß für die Verseifung von Äthylacetat die Reaktionsgeschwindigkeit ungefähr verdoppelt wird, bei einer Temperaturerhöhung von 10° ($\mu = 11160$ Cal. pro g Molekül). Bei der Rohrzuckerinversion ist $\mu = 25640$ Cal. pro g Molekül. Um die Reaktionsgeschwindigkeit zu verdoppeln, ist hier 5° Temperaturhöhung erforderlich. Bei dem Vibriolysin ist der Temperatureinfluß noch viel bedeutender, μ ist fünfmal größer als bei der Rohrzuckerinversion und für die Verdoppelung der Reaktionsgeschwindigkeit ist nur etwas über 1° notwendig.

Nach unseren Erfahrungen bewahrt das Vibriolysin bei Zimmertemperatur und niedrigeren Wärmegraden Jahre hindurch seine hämolytische Fähigkeit ungeändert. Selbst nach Stehenlassen bei 37° läßt sich nach mehreren Monaten keine merkbare Abschwächung beobachten. Auf der anderen Seite genügt eine momentane Erwärmung auf 55° um vollständig jede Wirkung zu vernichten.

Der hohe Wert von μ erlaubt uns, diese Beobachtungen unter einem gemeinsamen Gesichtspunkte zusammenzufassen.

Dieses geht vielleicht mehr anschaulich aus Tabelle 6 her-

vor, wo die Reaktionsgeschwindigkeiten bei verschiedenen Temperaturen nach obenstehender Formel berechnet sind.

Tabelle 6.

Reaktionsgeschwindigkeit der Vibriolysinabschwächung bei verschiedenen Temperaturen, nach Tabelle 5 berechnet.

Temp.	K
54°	0,87
49°	0,041
48°	0,022
47°	0,0118
46°	0,00628
45°	0,00334
37°	0,000018
18°	0,0000000000238

Eine Abschwächung zu $1^0/_0$, die bei 49° in ungefähr 1 Stunde verläuft, fordert bei 54° nur ein paar Minuten. Auf der anderen Seite sinkt nach der Gleichung die Reaktionsgeschwindigkeit ganz außerordentlich stark, wenn die Temperatur erniedrigt wird. Eine ähnliche Abschwächung würde bei 37° zwischen 5 und 6 Monaten fordern und bei 18° mehrere hunderttausend Jahre.

Zwischen den Faktoren, die für die Reaktionsgeschwindigkeit von Bedeutung sind, haben wir besonders die Reaktion des Mediums untersucht. Unsere Vibriolysinlösung reagierte auf Lackmuspapier deutlich alkalisch, gab aber keine Rotfärbung mit Phenolphthalein. Hierzu mußte zu 10 ccm Lysinlösung 0,1 ccm 0,1 $n/_1$-NaOH zugesetzt werden.

Alle die folgenden Versuche über die Einwirkung der Säuren und Alkalien wurden bei konstanter Temperatur 46,2° angestellt. In 90 ccm Lysinlösung wurden die in den Tabellen angegebenen Mengen Säure oder Alkali abgemessen, nachdem so viel einer $1^0/_0$ NaCl-Lösung zugesetzt war, daß das Volumen in allen Fällen konstant 100 ccm wurde. Die Flüssigkeiten wurden vorher auf die Reaktionstemperatur 46,2° erwärmt.

Zu den Zeiten T wurden genau 10 ccm auspipettiert, die in Röhrchen gegeben wurden, in die vorher so viel Normalsalzsäure resp. Normalnatron abgemessen war, daß diese Menge der in 100 ccm befindenden Menge Alkali oder Säure entsprach. Alle Röhrchen, die dasselbe Volumen enthielten, wurden schnell abgekühlt, und die Messung der hämolytischen Wirkung wie früher vorgenommen.

Tabelle 7.

Vibriolysin, 100 ccm nach Zusatz der unterstehenden Mengen NaOH. Temperatur 46,2°.

0 NaOH I

T (Min.)	p obs.	p calc.
0	100	100,5
10	87	87,5
20	80	76
30	67	66,1
40	56	57,5
50	50	49,9
60	40	43,5
70	36	37,7
80	33	34
90	28,5	28,5
100	26,3	24,8

$K = 0{,}0061$

0 NaOH II

T (Min.)	p obs.	p calc.
0	100	100
15	79	78,3
45	46	47,6
60	37	37,2
75	29	29
90	20	22,7
105	17,7	17,7
120	14,4	13,8

$K = 0{,}00717$

0,85 $n/_1$-NaOH I

T (Min.)	p obs.	p calc.
0	100	63
10	48	43,5
20	32	29,9
30	18,5	20,5
40	13,9	14,1
50	9,7	7,4
60	6,3	6,7
70	4,6	4,6
80	2,8	3,2
90	2,1	2,2
100	1,7	1,5
110	1,06	1,04
120	0,85	0,72

$K = 0{,}0162$

0,85 $n/_1$-NaOH II

T (Min.)	p obs.	p calc.
0	100	100
10	67	64,7
20	40	41,8
30	25	26,9
40	15,2	17,4
50	10,5	11,3
60	6,7	7,3
70	5	4,7
80	3	3,0
90	2	1,75
100	1,5	1,3
110	1,0	0,82

$K = 0{,}01895$

1,7 ccm $n/_1$-NaOH

T (Min.)	p obs.	p calc.
0	100	101
5	77	64
10	40	40,6
15	26	25,7
20	15,7	16,3
25	10,4	10,4
30	6,5	6,6
35	4,0	4,2
40	3,0	2,7
45	2,3	1,7
50	1,6	1,1

$K = 0{,}0396$

2,55 ccm $n/_1$-NaOH

T (Min.)	p obs.	p calc.
0	100	( )
5	46	47,3
10	22	21,9
15	9,21	1,0
20	4,1	4,65
25	2,2	2,13

$K = 0{,}069$

3,4 ccm $n/_1$-NaOH I

T (Min.)	p obs.	p calc.
0	100	100,5
5	36	38,1
10	13,1	14,3
15	7,1	5,4
20	3,4	2

$K = 0{,}0847$

3,4 ccm $n/_1$-NaOH II

T (Min.)	p obs.	p calc.
0	100	100
2,5	58	64
5	40	41,1
7,5	25	26,3
10	18,4	17
12,5	11,6	11
15	7,4	7,1
17,5	4,5	4,6
20	2,9	2,9

$K = 0{,}0767$

4,25 ccm $n/_1$-NaOH

T (Min.)	p obs.	p calc.
0	100	100
2,5	51	50,4
5	26	26,2
7,5	13	13
10	6,7	6,7
12,5	3,1	3,4

$K = 0{,}1177$

Nach den in Tabelle 7 dargestellten Versuchen beschleunigt der Zusatz von kleinen Mengen NaOH in hohem Maße die Reaktionsgeschwindigkeit; die Reaktionsformel bleibt aber ungeändert. In der Tabelle finden sich drei Doppelversuche, zwei ohne Zusatz von NaOH mit den Konstanten 0,0061 und 0,00717, zwei mit 0,85 ccm $n/_1$-NaOH mit $K = 0{,}0162$ und 0,01895 und zwei mit 3,4 ccm $n/_1$-NaOH und $K = 0{,}0847$ und 0,0767. Die Abweichungen sind resp. 17,6 %, 17 % und 10,4 %; hierdurch hat man eine Vorstellung über die Versuchsfehler.

Bei Zusatz von kleinen Mengen HCl (Tabelle 8) kommt die Eigentümlichkeit zum Vorschein, daß die Reaktionsgeschwindigkeit sehr merkbar heruntergeht. Eine naheliegende Erklärung

Tabelle 8.

Vibriolysin, 100 ccm, nach Zusatz der unterstehenden Mengen von HCl. Temp. 46,2°.

1 ccm $n/_1$-HCl

T (Min.)	*p* obs.	*p* calc.
0	100	100
30	77	77
60	59	58,7
90	44	44,9
120	34	34,3
150	26	26,2
210	16	15,3
270	12	8,9

$K = 0{,}0039$

2 ccm $n/_1$-HCl

T (Min.)	*p* obs.	*p* calc.
0	100	—
30	81	81,1
60	77	76,9
90	73	73
120	70	69,2
160	65	64,1
180	63	62,1
210	60	58,8
240	57	55,7

$K = 0{,}00076$

4 ccm $n/_1$-HCl

T (Min.)	*p* obs.	*p* calc.
0	100	96,6
30	92	91,8
60	87	87,5
90	82	84,9
120	77	78,7
150	71	74,8
180	75	71
210	69	67,5
240	68	64

$K = 0{,}00074$

4,25 $n/_1$-HCl

T (Min.)	*p* obs.	*p* calc.
0	100	98,4
15	97	96,8
30	95	95,2
45	95	93,3
60	95	91,6
75	97	90,2
90	86	88,7
105	80	87,1
120	86	86,5
135	80	84
150	80	81,7
180	80	79,4

$K = 0{,}00052$

5,0 $n/_1$-HCl

T (Min.)	*p* obs.	*p* calc.
0	100	100
30	89	88,4
60	74	78
90	68	68,8
120	59	60,7
150	55	53,6
180	46	47,2
210	42	41,9

$K = 0{,}0018$

5,74 ccm $n/_1$-HCl

T (Min.)	*p* obs.	*p* calc.
0	100	79,4
30	37	40,3
60	20	20,3
90	10,4	10,3
120	5,2	5,2
150	2,8	2,7
180	1,35	1,35

$K = 0{,}00983$

6 ccm $n/_1$-HCl

T (Min.)	*p* obs.	*p* calc.
0	100	100
15	47	47
30	22	21,9
45	8,9	10,2
60	4,7	4,73
75	2,0	2,21

$K = 0{,}0221$

6,25 ccm $n/_1$-HCl

T (Min.)	*p* obs.	*p* calc.
0	100	100
5	61	63,2
10	40	40
15	23	25,1
20	17	15.9
25	10	10
30	7,3	6,4

$K = 0{,}04$

6,5 ccm $^n/_1$-HCl			6,75 ccm $^n/_1$-HCl		
T	p	p	T	p	p
(Min.)	obs.	calc.	(Min.)	obs.	calc.
0	100	100	0	100	100
5	43	47,2	2,5	46	56,2
10	20	22,2	5	33	31,6
15	11,1	10,5	7,5	14,8	17,8
20	6,3	4,9	10	10,1	10,0
$K = 0,0653$			12,5	6,8	5,6
			$K = 0,1$		

ist, daß das ursprünglich vorhandene Alkali die Reaktionsgeschwindigkeit 0,0061 bis 0,00717 bedingt. Wird diese Alkalimenge neutralisiert, so sinkt die Reaktionsgeschwindigkeit. Wie aus der Tabelle ersichtlich ist, hält sie sich ungefähr ungeändert bei Zusatz von 2 ccm bis 4,25 ccm $^n/_1$-HCl, um dann bei weiter vermehrten Mengen Säure stark zu steigen. Vielleicht beruht dieses darauf, daß die Vibriolysinlösung kohlensaure Alkalien enthält, und das Phänomen ist in guter Übereinstimmung mit der Erfahrung, daß es unmöglich ist, den Neutralisationspunkt eines aus Bouillon gewonnenen Kulturfiltrates genau anzugeben.

Die Resultate der Tabelle 7 und 8 sind an der Tabelle 11 zusammengefaßt und graphisch in der Fig. 1 dargestellt.

Tabelle 9.

Vibriolysin, 100 ccm nach Zusatz der unterstehenden Mengen von CH_3COOH.
Temp. 46,2°

8,5 ccm $^n/_1$-CH_3COOH			9 ccm $^n/_1$-CH_3COOH		
(Min.)	p	p	T	p	p
T	obs.	calc.	(Min.)	obs.	calc.
0	100	113,5	0	100	100
2,5	96	96,3	2,5	74	69,5
5	83	81,3	5	49	47,9
7,5	69	68,9	7,5	33	33,2
10	54	58,5	10	21	22,9
12,5	47	48,2	12.5	14,5	15,9
15	42	41,7	15	8,2	11,2
$K = 0,029$			17,5	7,5	7,5
			$K = 0,064$		

Tabelle 10.

Vibriolysin, 100 ccm nach Zusatz der unterstehenden Mengen von NH_4OH.
Temp. 46,2°.

0,05 ccm n/1-NH_4OH			1 ccm n/1-NH_4OH			3 ccm n/1-NH_4OH		
(Min.) *T*	*p* obs.	*p* calc.	(Min.) *T*	*p* obs.	*p* calc.	(Min.) *T*	*p* obs.	*p* calc.
0	100	100	0	100	100	0	100	100
5	91	87,7	5	71	74,1	4	59	59,4
10	69	76,9	10	57	55,1	9	31	30,9
15	65	67,5	15	41	41	14	14,6	16,0
20	54	59,2	20	29	30,5	19	8,2	8,3
25	51	52	25	26	22,7	24	5,0	4,4
30	37	45,5		$K = 0,0258$		29	4,0	2,3
35	43	39,9					$K = 0,0565$	
60	29	20,8						
	$K = 0,0114$							

3,5 ccm n/1-NH_4OH			4 ccm n/1-NH_4OH		
(Min.) *T*	*p* obs.	*p* calc.	(Min.) *T*	*p* obs.	*p* calc.
0	100	100	0	100	100
2,5	71	71,9	2,5	58	58,3
5	51	51,4	5	32	35
7,5	37	36,7	7,5	20	20
10	28	26,2	10	9,4	11,6
12,5	18,7	18,7	12,5	6,8	6,8
15	13,9	13,3	15	5,4	4,0
	$K = 0,0582$			$K = 0,0933$	

Tabelle 11.

Zusammenfassung der Tabellen 7, 8, 9 und 10

	K			*K*
4,25 ccm n/1-NaOH		0,1177	4 ccm n/1-NH_4OH	0,0933
3,4 „ „	I. 0,0847 II. 0,0767	0,0807	3,5 „ „	0,0582
			3,0 „ „	0,0565
2,55 „ „		0,069	1,0 „ „	0,0258
1,7 „ „		0,0396	0,5 „ „	0,0114
0,85 „ „	I. 0,0162 II. 0,01895	0,01758		
0 „ „	I. 0,0061 II. 0,00717	0,00664		
1 „ n/1-HCl		0,0039		
2 „ „		0,00076		
4 „ „		0,00074		

Zusammenfassung der Tabellen 7, 8, 9 und 10 (Fortsetzung).

	K		
4,25 ccm $^{n}/_{1}$-HCl	0,00052		
5 „ „	0,0018		
5,74 „ „	0,00983		
6 „ „	0,0221	8,5 ccm $^{n}/_{1}$-CH_3COOH	0,029
6,25 „ „	0,04		
6,5 „ „	0,0653	9 „ „ „	0,064
6,75 „ „	01,		

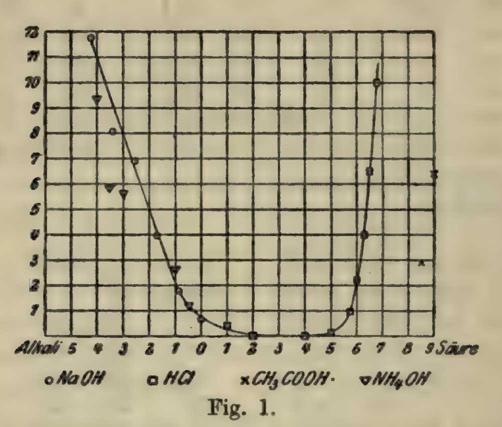


Fig. 1.

An der Abszissenachse sind die Alkalimengen (pr. 10 ccm Vibriolysin gerechnet) links für die O-Punkte (kein Zusatz), die Säuremengen rechts angeführt. Die Ordinaten stellen die entsprechenden Reaktionsgeschwindigkeiten, K, (mit 100 multipliziert) dar.

○ bedeutet die Reaktionsgeschwindigkeit nach Zusatz von NaOH
□ „ „ „ „ „ „ „ HCl
× „ „ „ „ „ „ „ CH_3COOH
▽ „ „ „ „ „ „ „ NH_4OH.

Sobald die Alkalinität 0,01 n, und die Acidität 0,06 n überschreitet, wachsen die Reaktionsgeschwindigkeiten nahezu proportional den Alkali- und Säurezusätzen, am stärksten mit den letzten.

Auch schwache Säuren, wie Essigsäure (Tabelle 9), beschleunigten die Reaktionsgeschwindigkeit, doch bedeutend geringer als Salzsäure.

Ammoniak (Tabelle 10) wirkt etwas weniger stark als äquivalente Quantitäten Natronhydrat, doch ist der Unterschied gar nicht so groß, daß es sich hier um eine Wirkung der OH-Ionen handeln kann. Vielleicht besteht die Wirkung der beiden

Basen, Natronlauge und Ammoniak, darin, daß sie eine alkalische Substanz der Vibriolysinlösung, schwache organische Basen, frei machen.

Eine besondere Versuchsreihe wurde zur Aufklärung der Frage angestellt, um den Einfluß der Temperatur bei geänderter Alkalescens zu studieren. Zu 90 ccm Vibriolysin wurden 0,5 ccm $^n/_1$-NaOH und 9,5 ccm 1 $^0/_0$ NaCl-Lösung gegeben und die Reaktionskonstanten bei den Temperaturen 48°, 47,5°, 47° und 46,5° untersucht. (Tabelle 12.)

Tabelle 12.

Vibriolysin mit konstanten Mengen von Alkali (0,5 ccm $^n/_1$-NaOH). Temperatur variierend.

Temp. 48°			Temp. 47,5°			Temp. 47°			Temp. 46,5°		
T (Min.)	*p* obs.	*p* calc.	*T* (Min.)	*p* obs.	*p* calc.	*T* (Min.)	*p* obs.	*p* calc.	*T* (Min.)	*p* obs.	*p* calc.
0	100	100	0	100	100	0	100	100	0	(100)	—
2,5	83	83,6	5	74	75,7	10	64	63,5	15	52	48,6
5	69	69,7	10	52	57,3	20	47	40,2	30	32	32,2
7,5	60	58,2	15	39	43,2	30	30	25,4	45	21	21,2
10	50	48,6	20	33	32,7	40	17,8	16,1	60	14,1	14,1
12,5	37	40,6	25	25	24,7	50	10	10,2	75	8,6	9,3
15	32	33,2	30	17,5	18,6	60	6	5,5	90	6,2	6,1
17.5	28	28,2	35	14	14,1	70	4,1	4,1	105	4,4	4,1
$K = 0.0313$			40	10	10,6	$K = 0.0199$			$K = 0.012$		
			$K = 0.0243$								

Es ergab sich, daß μ genau so groß war wie bei Vibriolysin ohne Alkalizusatz, 128000. (Tabelle 13.)

Tabelle 13.

Zusammenfassung von Tabelle 12.

Temp.	*K*. abs.	*K*. calc.
48°	0,0313	0,0313
47,5°	0,0243	0,0229
47°	0,0199	0,0168
46,5°	0,012	0,0123
	$\mu = 128000$	

Diese Beobachtung bietet ein gewisses Interesse, da die Abschwächung von Vibriolysin ohne Alkalizusätze wahrscheinlich von einer schwachen organischen Basis bedingt ist.

Auch die Anfangskonzentration der Lysinlösung hat eine große Bedeutung für die Reaktionsgeschwindigkeit. Ein Beispiel findet sich in Tabelle 14.

Tabelle 14.

Vibriolysin. Einfluß der Verdünnung.
Temp. 47,8°.

Conc. 1			Conc. 0,5			Conc. 0,25		
T (Min.)	*p* obs.	*p* calc.	*T* (Min.)	*p* obs.	*p* calc.	*T* (Min.)	*p* obs.	*p* calc.
0	100	100	0	100	100	0	100	100
10	59	59,6	10	92	84,7	10	90	91,6
20	38	39,3	20	73	71,9	20	84	83,6
30	17	20,7	30	59	61,1	30	84	76,6
40	6,8	12,2	40	52	51,9	40	71	70
50	6,8	7,2	50	37	43,9	50	69	64
70	2,5	2,5	60	37	37,3	60	58	58,5
80	1,7	1,5	70	32	31,6	70	47	53,5
100	1,0	0,9	80	27	26,9	80	47	49
$K = 0.0229$			90	24	22,7	90	47	44,7
			100	18,3	19,3	100	40	40,9
			115	18,3	15,1	115	36	35,9
			130	11	11,8	130	31	31,3
			150	8,5	8,5	150	24	26,2
			$K = 0.00715$			180	19.3	20
						$K = 0.00388$		

Bei konstanter Temperatur, 47,8°, wurde die Abschwächung von drei Lysinlösungen verglichen, die eine unverdünnte (conc. 1), die andere mit gleichen Teilen 1 °/₀ NaCl-Lösung versetzt (conc. 0,5) und die dritte mit 3 Teilen (conc. 0,25). Man sieht, daß die Reaktionsgeschwindigkeit mit steigender Verdünnung sehr heruntergeht; dieses ist wohl der sinkenden Alkalikonzentration zuzuschreiben.

Um das Verhältnis zwischen Lysinkonzentration selbst und Reaktionsgeschwindigkeit aufzuklären, müßte man ganz alkalifreie Lösungen haben.

Ein anderes Hämolysin, das Tetanolysin, das auf Lackmuspapier neutral reagierte, wurde in ganz entsprechender Weise und mit derselben Technik wie das Vibriolysin untersucht.

Die Versuchsergebnisse waren ganz ähnliche.

Tabelle 15.

Abschwächung des Tetanolysins bei verschiedenen Temperaturen.

53,5°			52,95°			52,37°		
T (Min.)	*p* obs.	*p* calc.	*T* (Min.)	*p* obs.	*p* calc.	*T* (Min.)	*p* obs.	*p* calc.
0	100	100	0	(100)	(74,1)	0	100	100
2	71	68,4	3	52	54,5	4	71	71,9
4	44	46,7	6	35	35,5	8	52	52,1
6	27	31,9	9	24	24,4	12	37	37,4
8	21	21,8	12	17	16,9	16	27	26,9
10	15	15,0	15	10,7	11,7	*K* = 0.0355		
12	10,8	10,2	18	8,1	8,1			
K = 0.0825			21	6,5	5,6			
			K = 0.054					

51,55°			50,95°			49,8°		
T (Min.)	*p* obs.	*p* calc.	*T* (Min.)	*p* obs.	*p* calc.	*T* (Min.)	*p* obs.	*p* calc.
0	(100)	(87,5)	0	100	93	0	100	(82,6)
5	75	74,8	10	75	75	10	80	74,3
11	62	61,9	20	59	60,3	20	67	66,7
15	57	54,6	40	37	39,2	40	52	53,6
20	45	46,7	65	23	22,9	60	42	43,2
30	34	34,1	80	17,5	16,9	80	34	34,7
40	27	25	100	10	10,7	100	28	27,9
50	20	18,3	120	8	7,0	124	21	21,5
60	13,4	13,4	*K* = 0.00938			140	18,2	18,0
70	11,0	9,8				160	14,3	14,5
K = 0.0136						180	11,8	11,7
						200	9,5	9,4
						K = 0.00473		

Wie aus Tabelle 15 hervorgeht, folgte die Abschwächungsgeschwindigkeit ziemlich genau der Formel

$$-\frac{dp}{dt} = Kp.$$

Die Abhängigkeit der Reaktionsgeschwindigkeit von der Temperatur folgte (siehe Tabelle 16) innerhalb der Versuchsfehler nach der Gleichung

$$\frac{K_1}{K_2} = e^{\frac{\mu}{2}\frac{T_1 - T_2}{T_1 T_2}}$$

Der Einfluß der Temperatur ist hier noch größer, indem μ 173300 Cal. ist. Dementsprechend steigt die Reaktionsgeschwindigkeit ungefähr auf das 2—3fache pro Grad.

Tabelle 16.

Tetanolysin.

Zusammenfassung von Tabelle 15.

Temp.	K abs.	K calc.
53.5°	0.0825	0.0857
52.95°	0.054	0.054
52.37°	0.0355	0.0333
51.55°	0.0136	0.0166
50.95°	0.00938	0.0101
49.8°	0.00473	0.00409

$\mu = 173300$

Wie bei Vibriolysin wird die Reaktionsgeschwindigkeit bedeutend beschleunigt bei Zusatz von Alkali (Tabelle 17), und noch mehr in Gegenwart von Säure (Tabelle 18).

Tabelle 17.

Abschwächung des Tetanolysins in Gegenwart von Alkali.

Temperatur 49,83°.

90 ccm Tetanolysin 9,5 „ 0,9% NaCl 0,5 „ n-NaOH			90 ccm Tetanolysin 9 „ 0,9% NaCl 1 „ n-NaOH			90 ccm Tetanolysin 8 „ 0,9% NaCl 2 „ n-NaOH		
T (Min.)	p obs.	p calc.	T (Min.)	p obs.	p calc.	T (Min.)	p obs.	p calc.
0	100	71,6	0	100	94,4	0	100	71
5	71	65	5	81	84,3	5	66	62,4
10	59	59	10	76	75,5	10	51	55
20	50	48,4	15	64	67,5	16,5	47	46,6
40	36	32,7	20	62	60,4	20	41	42,5
60	21	22	30	51	48,3	30	31	32,8
83	14	14	40	39	38,7	41	24	24,8
100	10	10	50	28	31	50	20	19,6
120	7,6	6,7	60	25	24,8	60	14	15,2
$K = 0,00855$			70	19	19,9	70	11,8	11,7
			80	16	15,9	80	10	9,1
			$K = 0,00968$			$K = 0,0112$		

Tabelle 18.

Abschwächung des Tetanolysins in Gegenwart von Säure, Temperatur 49,88°.

90 ccm Tetanolysin 9 „ 1% NaCl 1 „ n-H_2SO_4		
T (Min.)	p obs.	p calc.
0	100	69
5	75	63,5
10	59	58,6
20	52	49,9
30	42	42,3
40	36	35,9
60	25	25,9
80	19	18,7
100	14	13,5
120	9,8	9,8

$K = 0,00708$

90 ccm Tetanolysin 8 „ 1% NaCl 2 „ n-H_2SO_4		
T (Min.)	p obs.	p calc.
0	100	97,5
5	57	59,2
10	37	36
15	20	21,7
20	14	13,2

$K = 0,0435$

Der Reaktionstypus ändert sich hierdurch nicht.

Nach den obenstehenden Untersuchungen muß man sich denken, daß den Toxinen und verwandten Körpern eine Tendenz zum spontanen Zerfall eigentümlich ist; daß diese Abschwächung bei niedriger Temperatur so langsam fortschreitet, daß sie kaum merkbar ist. Sie wird aber stark beschleunigt durch Erwärmen auf 45 bis 55° und durch eine Reihe von Faktoren, z. B. freie O- und OH-Ionen, die wahrscheinlich als Katalysatoren auftreten.

Für das Diphtheriegift machten Arrhenius nnd Madsen[1]) es wahrscheinlich, daß die spontane Abschwächung bei 2 bis 4° der monomolekularen Gleichung folgte. Bei dieser niedrigen Temperatur schwächen sich ja viele Toxine ab und es müssen wohl hier besondere Katalysatoren zugegen sein.

In den Fällen, wo die Lösung eine ausgeprägte saure oder alkalische Reaktion besitzt, könnte man vielleicht durch Abstumpfung der freien Säure oder des Alkali die Geschwindigkeit des spontanen Zerfalles bedeutend heruntersetzen. Die Bedeutung, die Toxine so kalt wie möglich aufzuheben, geht ja aus obenstehendem ohne weiteres hervor.

---

[1]) Le poison diphtérique. Oversigt Kgl. Danske Vidensk. Selskabs Forhandl. 1904, 4.

Der hohe Wert von μ stimmt mit dem Phänomen gut überein, daß das Tetanolysin und Vibriolysin längere Zeit bei Brutschranktemperatur, 37°, bestehen können und doch eine kurzdauernde Erwärmung bei 55° nicht ertragen. Es war dann naheliegend zu erwarten, daß man entsprechende Verhältnisse bei den Alexinen, Komplementen und ähnlichen Körpern finden könnte, die bei Körpertemperatur einigermaßen stabil sind, während sie gewöhnlich bei 55° ihre Wirkung momentan verlieren.

Ein gutes Objekt für diese Untersuchung war das normale Ziegenserum, das bekanntlich auf Kaninchen-erythrocyten kräftig lösend wirkt. Die Abschwächung von unserem Ziegenserum konnte bei 51 bis 53° bequem verfolgt werden, und folgte (Tabelle 19)
auch der monomolekularen Gleichung.

Tabelle 19.

Hämolytisches Ziegenserum.
Abschwächung bei verschiedenen Temperaturen.

53°			52,5°			52°		
T (Min.)	p obs.	p calc.	T (Min.)	p obs.	p calc.	T (Min.)	p obs.	p calc.
0	100	100	0	100	100	0	100	100
2,5	58	58,2	2,5	64	70,8	5	63	65
5	44	33,4	5	49	50,1	10	39	42,4
7,5	18	19,3	7,5	37	35,5	15	27,5	27,5
$K = 0{,}0953$			10	25	25,1	20	18	17,8
			12,5	20	17,6	25	13	11,6
			$K = 0{,}06$			$K = 0{,}0374$		

51,5°			51°		
T (Min.)	p obs.	p calc.	T (Min.)	p obs.	p calc.
0	100	100	0	100	—
5	85	74,8	5	74	73,4
10	62	56,2	10	59	62,5
15	37	42,2	15	49	53,3
20	29	31,6	20	45	45,4
25	26	23,7	25	40	38,7
30	17	17,8	30	33	33
$K = 0{,}025$			35	28	28,1
			40	25	24
			$K = 0{,}0139$		

In diesem Falle war der Einfluß der Temperatur noch größer als bei den obenerwähnten Bakteriolysinen, indem $\mu = 198500$ gefunden wurde (Tabelle 20).

Tabelle 20.

Zusammenfassung von Tabelle 19.

Temp.	*K* obs.	*K* calc.
53°	0,0953	0,0955
52,5°	0,06	0,0598
52°	0,0375	0,0375
51,5°	0,025	0,0235
51°	0,0139	0,0145

$\mu = 198500$

Dieses entspricht einer Steigerung der Reaktionsgeschwindigkeit um das 2,6fache pro Grad, die größte Zunahme einer Reaktionsgeschwindigkeit mit der Temperatur, die je gefunden worden ist.[1])

Die Abhängigkeit der Reaktionsgeschwindigkeit von der Temperatur ist somit eine viel größere, als man sonst bei den gewöhnlichen chemischen Reaktionsgeschwindigkeiten findet. Vielleicht könnte man hieraus einige neue Gesichtspunkte für die Bedeutung der Temperaturerhöhung bei dem Fieber ableiten.

Bekanntlich sind es nur ganz einzelne Fälle, wo man sich denken könnte, daß die beim Fieber erreichte Temperatur an und für sich schädlich auf die Mikroben wirken könnte. Dagegen muß man in Betracht ziehen, daß die microbicide Wirkung der Körpersäfte mit steigender Temperatur erhöht wird.

Für die Desinfektion von Milzbrandsporen durch Sublimat zeigten Madsen und Nyman[2]) eine Zunahme bis auf das 2,5fache mit 10° Temperatursteigerung. Für die mikrobiciden Körpersäfte ist die Zunahme bedeutend größer, um ungefähr das Doppelte.

Für die Bakteriengifte kann indessen eine kleine Temperaturerhöhung unter Umständen eine viel größere Bedeutung haben. Die Abschwächung des Tetanolysins z. B. steigt auf das 2,4fache pro Grad.

[1]) Arrhenius, Immunochemie. Leipzig 1907, S. 31.

[2]) Contributions aux études théoriques sur la désinfection. Oversigt Kgl. Danske Vidensk. Selskabs Forh. 1907 Nr. 3.

Zu derselben Zeit vermehrt sich natürlich auch die schädliche Wirkung der Toxine auf die Körperelemente. Diese Zunahme ist nach den Untersuchungen von Madsen und Walbum eine viel kleinere, nur um das 1,2 fache pro Grad.

In der nachstehenden Tabelle (Tabelle 21) haben wir versucht, zusammenzustellen, wie diese verschiedenen Zunahmen sich verhalten.

Tabelle 21.

Temp.	I. Desinfektion von Milzbrandsporen durch Sublimat μ ca. 15000	II. Mikrobicide Wirkung von Alexinen μ ca. 30000	III. Schädliche Einwirkung der Toxine μ ca. 30000	IV. Abschwächung des Tetanolysin durch Erwärmen μ ca. 173300
42°	1,47	2,16	2,16	77,6
41°	1,36	1,85	1,85	32,9
40°	1,26	1,59	1,59	13,8
39°	1,17	1,36	1,36	5,8
38°	1,08	1,17	1,17	2,41
37°	1,0	1,0	1,0	1,0

Die Wirkung bei 37°, der normalen Körpertemperatur, ist in allen Fällen = 1 gesetzt und nach den oben angeführten Versuchsergebnissen ist nach der Formel

$$\frac{K_1}{K_2} = e^{\frac{h}{2} \frac{T_1 - T_2}{T_1 T_2}}$$

die Wirkung bei den Temperaturen bis 42° berechnet. Die hier gegebenen Zahlen haben selbstverständlich nur orientierende Bedeutung. Man sieht, daß zur Verdoppelung der mikrobiciden Wirkung der Alexine eine Temperaturerhöhung um über 5 Grad erfordert wird. Die Toxinabschwächung (bei Tetanolysin) ist aber auf das 78fache gestiegen Eine mäßige Temperatursteigerung bis 39° steigertdie Toxinabschwächung bis auf das 6fache; gleichzeitig steigt die schädliche Wirkung des Toxins auf den Körper nur um das 1,36fache; der erste Prozeß überwiegt also, und somit sind die Bedingungen vorhanden, daß die Temperaturerhöhung für den infizierten Organismus nützlich sein könnte. Es braucht wohl nicht die Möglichkeit hervorgehoben zu werden, daß es auch umgekehrt sein könnte. Die Toxindestruktion bei 37° kann so ganz minimal sein, daß eine Erhöhung selbst um z. B. das 14fache

ohne Bedeutung ist, während der Organismus andererseits nicht die geringste Vermehrung, also auch nicht auf das 1,6fache der deletären Einwirkung der Toxine ertragen kann.

Diese Untersuchungen liefern ein neues Beispiel, wie viele Probleme, die Antigene und Antikörper betreffend, durch physico.-chemische Methoden aufgeklärt werden können, wie es von Hamburger, Arrhenius und Madsen betont wurde. Die Resultate können in folgender Weise resümiert werden:

1. Die Abschwächung des Vibriolysins, Tetanolysins und des hämolytischen Ziegenserums mit der Temperatur läßt sich durch die monomolekulare Formel ausdrücken.

2. Die Abhängigkeit der Reaktionsgeschwindigkeit von der Temperatur folgt der Arrheniusschen Gleichung

$$\frac{K_1}{K_2} = e^{\frac{\mu}{2} \frac{(T_1 - T_2)}{(T_1 T_2)}}$$

Bei den von uns untersuchten Präparaten war μ für

Vibriolysin	128570,
Tetanolysin	173300,
Ziegenserum	198500.

3. Die Reaktionsgeschwindigkeit wird von einer Reihe von „Katalysatoren" beeinflußt; z. B. von Säure und Alkali, die gewöhnlich beschleunigend wirken, ohne jedoch die monomolekulare Formel zu ändern.

Über den Einfluß der Gerinnung des Blutes auf die Leitfähigkeit desselben.

Nach gemeinschaftlich mit Frau Antonina Pheophilaktowa angestellten Versuchen mitgeteilt

von

A. Samojloff.

Mit 3 Figuren im Text.

(Aus dem physiologischen Laboratorium der physiko-mathem. Fakultät der Universität zu Kasan.)

Es ist seit den Untersuchungen von Bugarsky und Tangl (1) bekannt, daß die im Serum enthaltenen Eiweißkörper die Leitfähigkeit desselben beeinträchtigen. Diese direkt festgestellte Tatsache illustriert an einem speziellen Fall die allgemein gefaßte Regel von Arrhenius (2), nach welcher alle Nicht-Elektrolyte das Leitvermögen der Elektrolyte verringern.

Die Frage, auf welche die zu beschreibenden Versuche Antwort geben sollen, besteht darin, ob der genannte Einfluß der Eiweißstoffe und speziell der Einfluß des Fibrinogens des Blutes auf die Leitfähigkeit desselben sich ändert, wenn das Fibrinogen in den koagulierten Zustand übergeht. Mit anderen Worten, es wird die Frage aufgeworfen, ob die Leitfähigkeit des flüssigen Blutes infolge der Blutgerinnung eine Änderung erfährt.

Diese Frage war bis jetzt bloß einmal geprüft, und zwar von Frank (3), der auf Grund mancher theoretischer Betrachtungen eine Änderung der Leitfähigkeit des Blutes im Momente der Gerinnung desselben erwarten zu dürfen glaubte und die ganze Untersuchung in der Hoffnung, darin ein neues Moment zur Bestimmung der Gerinnungsgeschwindigkeit des Blutes zu finden, unternahm. Die Hoffnung hat sich aber nicht erfüllt, Frank kam zum Resultat, daß ein konstanter

und namhafter Unterschied in der Leitungsfähigkeit des flüssigen und geronnenen Blutes nicht zu konstatieren sei.

Unter den Gründen, die für eine Änderung der Leitfähigkeit des Blutes durch Gerinnung desselben sprechen können, muß an erster Stelle die von Oker-Blom (4) mitgeteilte Tatsache, daß das aus dem Blutkuchen abgepreßte Serum den elektrischen Strom besser leitet wie das des defibrinierten Blutes, erwähnt werden. Es wird aber diese Tatsache nur durch einen einzigen Versuch bekräftigt: das Serum des defibrinierten Blutes ergab die Leitfähigkeit 109,8, während für solches vom koagulierten Blute 114,40 gefunden wurde. Dabei ist aus der betreffenden Stelle der Arbeit von Oker-Blom zu ersehen, daß man ein derartiges Verhältnis zwischen den beiden Sera eines und desselben Blutes in bezug auf die Leitfähigkeit nur in den meisten Fällen und nicht immer zu sehen bekommt.

Andererseits muß hier hervorgehoben werden, daß die eben erwähnte Angabe von Oker-Blom in vollem Widerspruch mit einer Äußerung von Stewart (5) steht. So hat dieser Verfasser bereits einige Jahre vor dem Erscheinen der Oker-Blomschen Arbeit folgendes gefunden: „Der Widerstand des Serums vom geronnenen Blute ist ungefähr derselbe wie der des defibrinierten Blutes von demselben Tiere, kann aber ein wenig größer sein.“

In Anbetracht dieser widersprechenden Angaben führten wir außer den Versuchen über die Beeinflussung der Leitungsfähigkeit des Blutes durch die Gerinnung noch einige, die den eben berührten Punkt zum Gegenstand hatten.

Der anfängliche Plan für die Ausführung der Versuche bestand in folgendem: Es sollte ein gerinnungsfähiges Blut resp. Plasma in einem Widerstandsgefäß unter möglichst sorgfältiger Einhaltung der Temperatur, im Wasserthermostaten vor, während und nach der Gerinnung auf seine Leitfähigkeit geprüft werden. Die Sache erwies sich bedeutend schwieriger und umständlicher, als man dachte. Am meisten störend war der Umstand, daß man keinen Anhaltspunkt für den Moment des Eintretens der Blutgerinnung finden konnte. Wurde nach dem Einführen der zu koagulierenden Flüssigkeit in das Widerstandsgefäß eine Reihe von Bestimmungen der Minima vermittels des Telephons und des Schleifkontaktes ausgeführt, so war man immer im

ungewissen, ob das Blut bereits geronnen ist oder noch nicht. Nimmt man das Gefäß mit dem Blut aus dem Thermostaten heraus, um sich über das eventuelle Eintreten der Gerinnung zu informieren, so bleibt man in allen Fällen unbefriedigt. Ist das Blut schon geronnen, so kann man nicht sicher sein, ob nicht bereits die erste Minimumbestimmung am geronnenen Blute ausgeführt ist, denn die Gerinnung geschieht tatsächlich manchmal so rasch, daß man keine Zeit hat, das erste brauchbare Minimum festzustellen, um so mehr, als man sich dabei bemüht, gerade denjenigen R einzustöpseln, bei dem der Schleifkontakt ungefähr in der Mitte des Meßdrahtes zu liegen kommt; stellt sich heraus, daß das Blut noch flüssig ist, so hat man unnützerweise die Temperaturverhältnisse gestört und man befindet sich also ungefähr wiederum in derselben Lage wie zu Anfang des Versuches. Glücklicherweise gibt es eine Methode, die in ausgezeichneter und höchst anschaulicher Weise sehr genau den Zeitpunkt des Beginnes der Koagulation des Blutes im Widerstandsgefäß ohne unmittelbare Beobachtung zu bestimmen erlaubt. Ich meine die sehr zweckmäßige und sinnreiche Methode der Messung der Gerinnungsgeschwindigkeit des Blutes von Talianzeff (6). Die Methode besteht in folgendem: In dasselbe abgeschlossene Gefäß, in welchem das zu gerinnende Blut sich befindet, führen zwei Glasröhren; von diesen wird die eine, die oberhalb des Blutflüssigkeitsspiegels endet, mit einem Gebläse, wie es beispielsweise zur künstlichen Atmung gebraucht wird, durch Gummischläuche verbunden; die andere Röhre, die unterhalb des Flüssigkeitsspiegels endet, wird mit einer gewöhnlichen Mareyschen Kapsel verbunden. Führen wir nun vermittels des Blasebalges rhythmische Einblasungen von entsprechender Stärke aus, so ist nun leicht begreiflich, daß, solange das Blut flüssig bleibt, jedes Einströmen der Luft in das Gefäß eine Erhebung des Hebels des Tambours zur Folge haben wird. Schreiben wir die Bewegungen des Hebels auf einer berußten Trommel auf, so kennzeichnet sich der Moment des Eintritts der Gerinnung dadurch, daß die Reihe der Erhebungen auf einmal oder allmählich, jedoch in sehr kurzer Zeit, aufhört und der Hebel eine horizontale Linie schreibt. Das Kennzeichen, das uns hier über den Zustand des Blutes informiert, ist also genau dasselbe wie dasjenige,

welches uns bei einem Blutdruckversuch sagt, daß das Blut in der Kanüle geronnen ist: das Manometer schreibt nicht mehr. Die Anwendung der Talianzeffschen Methode brachte Ordnung und Sicherheit in unsere Versuche hinein, so daß wir das Material, welches vor der Registrierung der zeitlichen Verhältnisse der Gerinnung gewonnen war, ganz unberücksichtigt ließen.

Das Widerstandsgefäß in der von Arrhenius angegebenen Form wurde zum Zweck der Anwendung der mitgeteilten Methode etwas umgeändert (s. Fig. 1). Durch den gut schließenden Deckel des Gefäßes werden 2 Glasröhren hindurchgeführt, die eine *a* ist mit dem durch einen Elektromotor getriebenen Gebläse, die andere *b* mit einer Mareyschen Kapsel verbunden. Um die kalte Luft des Gebläses in das am meisten bis 25° C gehaltene Gefäß nicht hineinzutreiben, wurde das im Widerstandsgefäß oberhalb des Flüssigkeitsspiegels sich befindende Ende der Röhre *a* mit einem kleinen, aus feinstem Gummi bereiteten Beutelchen versehen. Es ist das dieselbe Maßregel, die H. J. Hamburger benutzt, um bei den Bewegungen des Rührers am Beckmannschen Apparate die Zimmerluft von der Luft des Gefriergefäßes zu trennen.

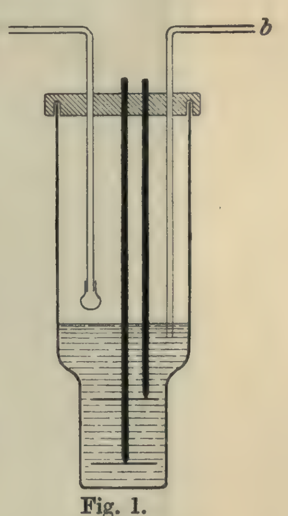


Fig. 1.

Gleichzeitig mit dem Aufzeichnen der Gerinnungskurve wurden an derselben Trommel auch diejenigen Momente markiert, in welchen die Minimumbestimmungen ausgeführt wurden. Zu diesem Zwecke befand sich unter der ersten Mareyschen Kapsel eine andere, die durch Gummischlauch mit einer Gummibirne verbunden war. War in einem gegebenen Falle die Stelle des Schleifkontaktes für eln Minimum festgestellt, so drückte der Beobachter die Birne und markierte den betreffenden Zeitpunkt.

Da außerdem noch die Zeit durch einen Chronographen notiert wurde, so konnten sämtliche in Betracht kommende zeitliche Verhältnisse genau bestimmt werden.

Um die Zuverlässigkeit der Methode von Talianzeff zu prüfen, haben wir gleiches Blut in zwei Gefäße hineingetan; die Gefäße waren in der angegebenen Weise einerseits durch



Fig. 2.

kommunizierende Röhren mit einem Gebläse, andererseits mit 2 Mareyschen Kapseln verbunden: die Bewegungen der beiden Hebel sistierten beständig zu gleicher Zeit. In einer ähnlichen

Weise, d. h. durch Benutzung zweier Gefäße, konnten wir uns überzeugen, daß das Durchleiten von Induktionsströmen, wie es bei der Anwendung der Kohlrauschschen Methode ge-

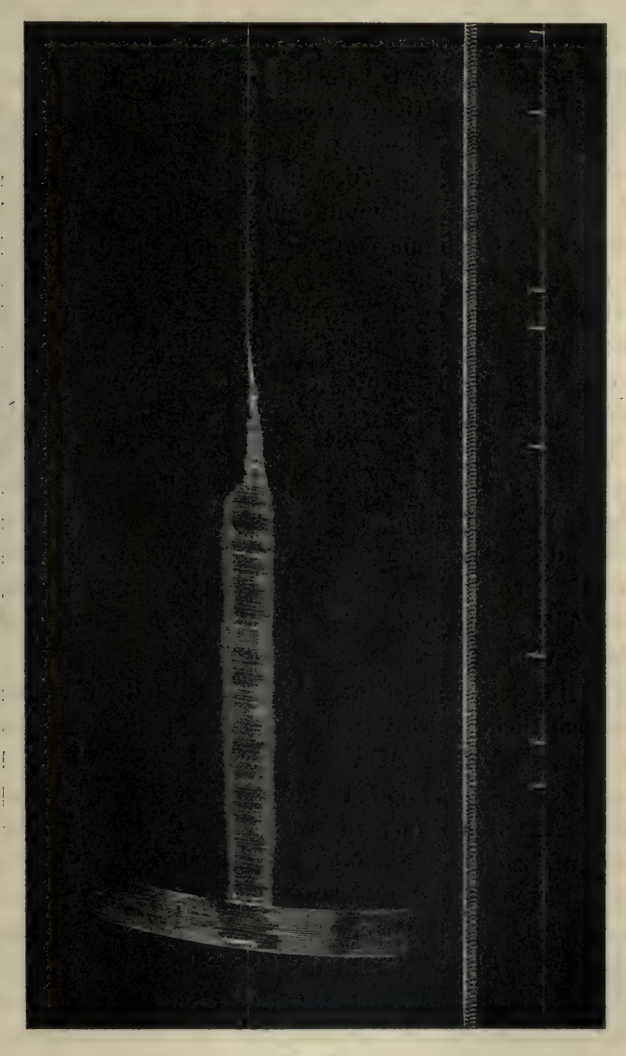


Fig 3.

schieht, keinen Einfluß auf die Schnelligkeit des Eintretens der Blutgerinnung ausübt.

In Fig. 2 und 3 sehen wir zwei Beispiele graphischer Aufzeichnung der zeitlichen Verhältnisse der Gerinnung und

Leitfähigkeitsbestimmung. An beiden Kurven bedeuten die langen Linien die Ausschläge des Hebels vor dem Eintragen der Flüssigkeit, die kleineren die Ausschläge nach dem Einführen des Blutes resp. des Serums in das Widerstandsgefäß. Der Moment der Gerinnung ist meistens sehr scharf markiert, so daß man denselben beinahe in Sekunden angeben kann (s. Fig. 2); seltener tritt die Gerinnung langsamer ein (s. Fig. 3). Den Eintritt der Gerinnung im Falle Fig. 2 (s. Tabelle 10) bezeichnen wir mit den Worten: die Gerinnung tritt kurz nach der 2. Leitfähigkeitsbestimmung ein; im Falle Fig. 3 (s. Tabelle 7) sagen wir: der Gerinnungsvorgang beginnt vor der 4. und endet etwa zugleich mit der 5. Bestimmung.

Das zweite Moment, welches in methodischer Hinsicht berücksichtigt werden mußte, ist die Einhaltung einer und derselben T^0 vor, während und nach der Gerinnung. Die anfängliche Versuchsanordnung war die, daß wir direkt das Blut aus dem Tier (Katze) in das Widerstandsgefäß, welches im Wasserthermostaten bei $39{,}5^0$ sich befand, überführten und sofort mit der Leitfähigkeitsbestimmung begannen. Das Paraffinieren des Widerstandsgefäßes behufs Verlangsamung der Gerinnung, wie es Frank machte, der übrigens sein Versuchsverfahren sehr kurz angibt, würde nicht viel nützen, da doch die Elektroden frei bleiben müssen.

Die in der angegebenen Weise angestellten Versuche erwiesen sich nicht befriedigend. Erstens kann man keineswegs sicher sein, daß die T^0 den nötigen Grad der Konstanz behält; die zur Bestimmung nötige Blutmenge ist relativ groß und das Zeitintervall bis zum Eintreten der Gerinnung sehr kurz, man kann deshalb kaum auf den Ausgleich der allerdings geringen Differenz in der Temperatur des Tierblutes und des Wassers im Thermostaten in der kurzen Zeit rechnen. Andererseits ist das rasche Eintreten der Gerinnung des aufgefangenen Tierblutes bei Körpertemperatur selbstredend sehr hinderlich für die Bestimmung der Leitfähigkeit vor dem Gerinnen. Beiläufig sei bemerkt, daß bei Entnahme von Blut vom Tier aus einer Kanüle man immer bei graphischer Aufzeichnung des Zeitpunktes der Gerinnung zu beobachten Gelegenheit hat, daß diejenige Blutprobe früher gerinnt, die später dem Tiere entnommen ist.

Es seien hier die Zahlen von zwei Versuchen mit frischem Katzenblut bei Körpertemperatur angeführt.

Was die Methodik der Leitfähigkeitsbestimmung, das Platinieren der Elektroden, der Bestimmung der Kapazität des Widerstandsgefäßes u. dgl. m. anbetrifft, so hielten wir uns genau an die Vorschriften, wie sie in dem bekannten Werk von H. J. Hamburger „Osmotischer Druck und Ionenlehre" angegeben sind. Die spezifische Leitfähigkeit

$$\lambda = \frac{c}{R} \cdot \frac{b}{a}$$

ist in sämtlichen Versuchen ausgedrückt in Größen, die bequemlichkeitshalber mit 10^4 multipliziert sind. In den weiter folgenden Tabellen bezieht sich immer die erste Zahl in der zweiten Kolumne (Zeitdistanz zwischen den einzelnen Bestimmungen) auf die Dauer zwischen dem Moment des Eintragens der zu koagulierenden Flüssigkeit in das Widerstandsgefäß und der ersten Bestimmung des Minimums.

Tabelle 1.

Katzenblut direkt vom Tier. T^0 im Thermostaten 38,9° C.

Nr. der Bestimmung	Zeitdistanz zwischen den Bestimmungen in Sekunden	Leitfähigkeit	Eintritt der Gerinnung
1	43	83,1	Die Gerinnung tritt kurz nach der 1. Bestimmung ein.
2	66	83,4	
3	50	83,4	
4	66	82,0	
5	54	80,0	

Tabelle 2.

Katzenblut direkt vom Tier. T^0 38,9° C.

Nr. der Bestimmung	Zeitdistanz zwischen den Bestimmungen	Leitfähigheit	Eintritt der Gerinnung
1	30 Sek.	78,6	Die Gerinnung tritt gleich nach der 2. Bestimmung ein.
2	21 „	79,0	
3	70 „	78,6	
4	126 „	75,3	
5	3 Min.	73,7	
6	3 „	72,1	
7	3 „	70,5	
8	3 „	67,6	

Sowohl in der 1. wie in der 2. Tabelle sehen wir eine Abnahme der Leitfähigkeit, die aber durchaus nicht an das Moment der Gerinnung gebunden ist, denn die Abnahme tritt auf und schreitet weiter nach der Gerinnung. Wie früher erwähnt wurde, kann hier die T° mitwirken. Andererseits ist auch daran zu denken, daß die beginnende Kontraktion des Gerinnsels eine Abnahme der Leitfähigkeit bewirken kann. Als Vermutung kann hier darauf hingewiesen werden, daß bei der Kontraktion der Fibrinfasern die roten Blutkörperchen, die praktisch an der Stromleitung sich fast gar nicht beteiligen, dichter aneinander gedrängt werden und hierdurch eine Zunahme des Widerstandes bewirken können. Das Phänomen der Leitungsabnahme nach der Gerinnung ist nicht immer gleich ausgeprägt, zuweilen ist es nur angedeutet; niemals ist aber eine Zunahme der Leitung zu beobachten. Wie es dem auch sei, die Erscheinung der Zunahme des Widerstandes des Gerinnsels und ihre Erklärung bilden eine selbständige Frage. Für uns ist das Resultat der Tabellen 1 und 2 bloß insofern wichtig, als wir keine auffallende Beziehung zwischen dem Momente der Gerinnung und der Leitungsänderung konstatieren können.

Verzögert man den Eintritt der Gerinnung dadurch, daß man das Blut vom Tier direkt in ein im Eis stehendes Widerstandsgefäß auffängt, um die Bestimmung der Leitungsfähigkeit bei 0° auszuführen, so bekommt man fortwährend abnehmende Größen; die Abnahme rührt in der ersten Zeit vom Sinken der Temperatur des Blutes her, außerdem kann hier eine Erscheinung mitwirken, die Oker-Blom (4) ausführlich geschildert und auseinandergesetzt hat, nämlich das Sinken der roten Blutkörperchen an die untere Elektrode, die ebenfalls eine Abnahme der Leitungsfähigkeit zur Folge hat. Wir haben beobachtet, daß die Abnahme auch nach erfolgter Koagulation fortschreitet, ohne daß im Momente der Gerinnung irgendeine stärkere Änderung der Leitungsfähigkeit sich bemerkbar machen würde.

Um die Konstanz der Temperatur möglichst einzuhalten, änderten wir die Versuchsanordnung insofern, als wir nicht aus der Arterie unmittelbar geronnenes Blut, sondern Blut mit oxalsaurem Ammon gemischt nahmen. Das auf diese Weise gerinnungsunfähig gemachte Blut war für eine längere Zeit im

Thermostaten bei 25° im Widerstandsgefäß und gleichzeitig im selben Thermostaten ein Gefäß mit Chlorcalciumlösung aufgestellt. Wenn der Versuch beginnen sollte, so wurde das Widerstandsgefäß im Wasser umgeschüttelt, vermittels einer Pipette eine bestimmte Menge der $CaCl_2$-Lösung in das Blut übertragen und von diesem Moment die Zeit bis zum Eintritt der Gerinnung gemessen. Auch bei dieser Kombination, also bei konstanter T°, war meistens eine Abnahme der Leitungsfähigkeit zu beobachten, wofür beispielsweise der Versuch Tabelle 3 angeführt sei.

Tabelle 3.

Katzenblut, behandelt mit oxalsaurem Ammon; darauf Eintragen von $CaCl_2$-Lösung. T° 25,1 C.

Nr. der Bestimmung	Zeitdistanz zwischen den Bestimmungen	Leitfähigkeit	Eintritt der Gerinnung
1	15 Sek.	81,4	Die Gerinnung tritt
2	33 „	80,4	zwischen der 7. u.
3	48 „	80,1	8. Bestimmung ein.
4	60 „	80,1	
5	1,5 Min.	78,5	
6	2,0 „	77,9	
7	2,0 „	76,7	
8	3,0 „	76,7	
9	2,5 „	76,7	
10	2,5 „	75,1	
11	3,0 „	73,6	
12	3,0 „	72,4	

Das stetige Abnehmen der spezifischen Leitfähigkeit des Blutes vor und nach der Gerinnung rührt wahrscheinlich, wie oben auseinandergesetzt ist, von der Sedimentierung der Blutkörperchen des flüssigen Blutes und ihrer Näherung zueinander im sich kontrahierenden Gerinnsel. Um sämtliche hindernde Momente zu beseitigen, verzichteten wir deshalb auf die Versuche mit ganzem Blute und arbeiteten weiter ausschließlich mit Plasma, welches vom mit oxalsaurem Ammon versetzten Blute stammte. In der besprochenen Weise wurde das Plasma für längere Zeit im Thermostaten gelassen und darauf zu einem bestimmten Momente mit CaCl-Lösung von derselben T° ver-

mengt und der Versuch in Gang gesetzt. Diese Versuchsanordnung gab durchaus zufriedenstellende und brauchbare Resultate.

Tabelle 4.

Katzenoxalatplasma. Gerinnung nach Hinzufügen von $CaCl_2$-Lösung. T° 25,0 C.

Nr. der Bestimmung	Zeitdistanz zwischen den Bestimmungen	Spezifische Leitfähigkeit	Eintritt der Gerinnung
1	94 Sek.	121,9	Zwischen der 2. und 3. Bestimmung.
2	20 „	121,9	
3	54 „	121,9	
4	50 „	122,4	
5	60 „	122,4	

Tabelle 5.

Katzenoxalatplasma. Gerinnung nach Hinzufügen von $CaCl_2$-Lösung. T° 25° C.

Nr. der Bestimmung	Zeitdistanz zwischen den Bestimmungen	Spezifische Leitfähigkeit	Eintritt der Gerinnung
1	33 Sek.	124,3	Zwischen der 2. und der 3. Bestimmung.
2	60 „	123,8	
3	45 „	124,3	
4	66 „	124,3	
5	60 „	124,3	

Tabelle 6.

Katzenoxalatplasma. Gerinnung nach Hinzufügen von $CaCl_2$-Lösung. T° 25,0° C.

Nr. der Bestimmung	Zeitdistanz zwischen den Bestimmungen	Spezifische Leitfähigkeit	Eintritt der Gerinnung
1	36 Sek.	127,9	Zwischen der 2. und der 3. Bestimmung.
2	54 „	128,4	
3	51 „	128,4	
4	57 „	128,4	
5	57 „	128,4	

Tabelle 7 (s. Fig. 3).

Katzenoxalatplasma. Gerinnung nach Zusatz von $CaCl_2$-Lösung.
T° 25,0° C.

Nr. der Bestimmung	Zeitdistanz zwischen den Bestimmungen	Spezifische Leitfähigkeit	Eintritt der Gerinnung
1	45 Sek.	122,9	Der Gerinnungsvorgang beginnt vor der 4. und endet etwa zugleich mit der 5. Bestimmung.
2	18 „	122,9	
3	33 „	123,4	
4	84 „	123,9	
5	45 „	123,9	
6	45 „	123,9	
7	72 „	123,9	
8	30 „	123,9	

Tabelle 8.

Katzenoxalatplasma. Gerinnung nach Zusatz von $CaCl_2$-Lösung.
T° 25,0° C.

Nr. der Bestimmung	Zeitdistanz zwischen den Bestimmungen	Spezifische Leitfähigkeit	Eintritt der Gerinnung
1	36 Sek.	120,3	Die Gerinnung tritt zwischen der 4. u. 5. Bestimmung ein.
2	78 „	120,3	
3	72 „	120,3	
4	69 „	120,9	
5	30 „	121,5	
6	21 „	121,5	
7	78 „	121,5	
8	39 „	121,5	

Tabelle 9.

Hundeoxalatplasma. Gerinnung nach Zusatz von $CaCl_2$-Lösung.
T° 25,1° C.

Nr. der Bestimmung	Zeitdistanz zwischen den Bestimmungen	Spezifische Leitfähigkeit	Eintritt der Gerinnung
1	108 Sek.	161,7	Die Gerinnung tritt zwischen der 2. u. 3. Bestimmung ein.
2	120 „	161,7	
3	102 „	164,0	
4	99 „	163,3	
5	90 „	163,3	

Tabelle 10 (s. Fig. 2).

Hundeoxalatplasma. Gerinnung nach Zusatz von $CaCl_2$-Lösung. T^0 25,1° C.

Nr. der Bestimmung	Zeitdistanz zwischen den Bestimmungen	Leitfähigkeit	Eintritt der Gerinnung
1	33 Sek.	130,0	Kurz nach der 2. Bestimmung.
2	72 „	130,0	
3	48 „	130,0	
4	33 „	130,9	
5	102 „	130,9	
6	45 „	130,9	

Tabelle 11.

Hundeoxalatplasma. Gerinnung nach Zusatz von $CaCl_2$-Lösung. T^0 25,1° C.

Nr. der Bestimmung	Zeitdistanz zwischen den Bestimmungen	Leitfähigkeit	Eintritt der Gerinnung
1	39 Sek.	135,8	Kurz nach der 2. Bestimmung.
2	63 „	135,8	
3	93 „	136,3	
4	69 „	136,3	
5	147 „	136,3	

Aus den mitgeteilten Versuchen an Katzen- und Hundeoxalatplasma geht hervor, daß eine Abnahme der Leitungsfähigkeit, wie sie früher, bei Untersuchung des ganzen Blutes, beobachtet wurde, nicht zu konstatieren ist, und daß wahrscheinlich die Ursache derselben in den früheren Versuchen tatsächlich, wie vermutet war, der Anwesenheit der roten Blutkörper zuzuschreiben ist. In den zuletzt angegebenen Tabellen sehen wir im Gegenteil eher eine Tendenz zur Zunahme der Leitungsfähigkeit, die ebenfalls nicht immer scharf an den Zeitpunkt des Gerinnungseintrittes gebunden ist. Diese Zunahme, die meistens sehr unbedeutend ist, glauben wir nicht dem Einflusse der Gerinnung zuschreiben zu müssen, sondern vermuten, daß es die Wirkung der anfänglichen schwachen Temperaturerniedrigung ist, die während der Manipulation des Eintragens der $CaCl_2$-Lösung in das Oxalatplasma zustande kommt. Nach unserem Dafürhalten sprechen die angeführten Zahlen dafür,

daß ein deutlich ausgesprochener Einfluß der Gerinnung auf die Leitfähigkeit des Blutes nicht zu konstatieren ist.

Wie eingangs erwähnt wurde, machten wir einige Versuche über die Leitfähigkeit des Serums des koagulierten und des des defibrinierten Blutes. Von 2 Portionen eines und desselben Blutes verschiedener Tiere war die eine in einem Gefäß zur Koagulation mit nachträglicher Kontraktion und Auspressen des Serums, die andere sofort nach der Entnahme aus dem Tier defibrinierte zum Absedimentieren der Blutkörperchen aufgestellt. Nach mehreren Stunden waren beide Sera auf ihre Leitfähigkeit bei 28,0° C untersucht.

Die Resultate tabellarisch zusammengestellt ergeben folgendes:

Tabelle 12.

Nr. des Versuches	Serumart	Spezifische Leitfähigkeit des Serums	
		des koagulierten Blutes	des defibrinierten Blutes
1	Katze	128,7	136,5
2	Katze	127,9	135,0
3	Katze	129,0	140,8
4	Katze	130,2	136,0
5	Katze	121,9	129,3
6	Hund	131,8	136,2
7	Rind	117,7	124,1
8	Rind	119,3	123,0

Es ist also in den 8 angestellten Versuchen ein ganz deutlicher Unterschied in der Leitfähigkeit des Serums eines und desselben Blutes abhängig von der Art und Weise, wie das Serum gewonnen ist, zu verzeichnen. Wir sahen oben, daß es für die Leitfähigkeit des Blutes ohne Bedeutung ist, ob das Fibrinogen im Blute gelöst oder zu Fibrin koaguliert sich befindet. Man kann sich deshalb vorstellen, daß der Unterschied in der Leitfähigkeit des Serums des koagulierten und defibrinierten Blutes nicht direkt vom Gerinnungsvorgang abhängig ist, sondern daß später, nachdem das Blut bereits geronnen ist, verschiedene Bedingungen beim Auspressen des Serum aus

dem Blutkuchen einerseits und beim Klarwerden der oberen Schicht des defibrinierten Blutes infolge der Sedimentierung andererseits, sich ausbilden können. Es ist möglich, daran zu denken, daß die Bedingungen für den Austritt der Substanzen der Blutkörperchen in das Serum beim Auspressen aus dem Blutkuchen weniger günstig sind wie die beim Senken der Blutkörperchen im flüssigen, vom Fibrin befreiten Blute. Im Einklang damit würde die Tatsache sein, daß das Serum des koagulierten Blutes ceteris paribus schlechter leitet wie das des defibrinierten Blutes.

Was die diskutierte Tatsache selbst anbetrifft, so müssen wir noch hinzufügen, daß Oker-Blom (4) zu einem direkt entgegengesetzten Resultate kam. Oker-Blom fand, daß das Serum des koagulierten Blutes meistens besser leitet wie das des defibrinierten Blutes. Bei genauerem Durchlesen der betreffenden Stelle bei Oker-Blom begegneten wir aber einigen Widersprüchen, die die Vermutung nahelegen können, daß hier ein Mißverständnis vorliegt. Auf Seite 134 der zitierten Arbeit lesen wir: „Es stellte sich dabei heraus, daß das Serum des defibrinierten Blutes meistens ein etwas schlechteres Leitvermögen besaß als das aus dem koagulierten Blute gewonnene. So ergab eine Probe Rinderblut für das Serum des defibrinierten Blutes die Leitfähigkeit 109,80, für solches des koagulierten Blutes 114,40. Hierzu ist allerdings zu bemerken, daß jenes gelb war, dieses dagegen eine deutlich rötliche Farbe hatte, wobei eventuell vorhandene Blutkörperchen zu dem relativ niedrigen Leitvermögen beigetragen haben können.“ Es ist klar, daß hier irgendeine Verwechslung vorgekommen ist. Denn „dieses“ Serum, welches rötlich war und deshalb schlechter leiten sollte und welches dem Sinne des Satzes zufolge das Serum des koagulierten Blutes war, hatte doch das Leitvermögen 114,4 und nicht 109,8. Berücksichtigt man noch dazu, daß das aus dem Blutkuchen ausgepreßte Serum meistenteils gelb aussieht, während das Serum des defibrinierten Blutes rötlich erscheint, so wäre es möglich, anzunehmen, daß hier eine Verwechslung der Benennungen der Sera stattfand, und daß das rötliche Serum des defibrinierten Blutes das Leitvermögen 114,4 und das gelbe des koagulierten 109,8 besaß. In unseren Versuchen war mit Ausnahme des Serums des Hundes

immer das rötliche Serum das besser, das gelbe das schlechter leitende. Wir müssen also sagen, daß trotz der Beimischung der roten Blutkörperchen das Serum des defibrinierten Blutes wenn nicht immer, so doch in vielen Fällen besser leitet als das blutkörperchenfreie Serum des koagulierten Blutes.

Literatur.

1. Bugarsky und Tangl, Physikalisch-chemische Untersuchungen über die molekularen Konzentrationsverhältnisse des Blutserums. Arch. f. d. ges. Physiol. 72, 540, 1898.
2. Arrhenius, Über die Änderung des elektrischen Leitvermögens einer Lösung durch Zusatz von kleinen Mengen eines Nichtleiters. Zeitschr. f. physikal. Chem. 9, 1892.
3. R. T. Frank, A Note on the Electric Conductivity of Blood during Coagulation. The American Journal of Physiology 14, 466, 1905.
4. M. Oker-Blom. Tierische Säfte und Gewebe in physikalisch-chemischer Beziehung. Arch. f. d. ges. Physiol. 79, 111, 1900.
5. G. Stewart, Elektrische Leitfähigkeit tierischer Flüssigkeiten. Centralbl. f. Physiol. 1897, 332.
6. A. Talianzeff, Apparat zur Messung der Gerinnungsgeschwindigkeit des Blutes. Le physiologiste russe 1902. 42.

Über die Permeabilität der Froschhaut mit besonderer Berücksichtigung der Wirkung von Kaliumionen und der Frage der irreciproken Durchlässigkeit.

Von

W. M. Bayliss, D. Sc., F. R. S., London.

Mit 2 Figuren im Text.

Bei den verschiedenen Deutungen, die neuerdings zur Erklärung der in lebenden Organismen aufgefundenen Erscheinungen gemacht worden sind, spielen die Eigenschaften der semi-permeablen Membranen eine wichtige Rolle. Eine eingehende Untersuchung dieser Eigenschaften ist daher von Wichtigkeit.

Es muß bemerkt werden, daß, wenn eine bestimmte Reihe von Erscheinungen durch die Annahme mit gewissen Eigenschaften behafteter Membranen erklärt wird, dies an sich kein Beweis für das wirkliche Vorhandensein dieser Membrane ist. Überdies kann eine flüchtige Auslegung von Befunden, die auf solchen Annahmen beruhen, der Theorie einer physikalisch-chemischen Deutung der Tatsachen nur schaden, es müßte denn der Beweis gelingen, daß die fraglichen Strukturen wirklich vorhanden sind.

Die Froschhaut scheint von vornherein ein sehr günstiges Objekt zum Studium der Eigenschaften der semi-permeablen Membrane zu sein. Sie kann leicht frei von andern Elementen und in verhältnismäßig großen Stücken präpariert werden. Sie hält sich ziemlich normal nach Aufhören der Zirkulation und Aufbewahrung bei Zimmertemperatur. Andererseits hat freilich die Erfahrung gezeigt, daß einige ihrer Eigenschaften als semipermeable Membran doch ziemlich schnell verloren gehen, so daß die Beobachtungen bei diesen Experimenten mit Frosch-

haut mit Vorsicht zu deuten sind. Wie die Mehrzahl der Membrane im lebenden Organismus, bietet sie ebenfalls den theoretischen Nachteil, nicht homogen zu sein, da sie aus einem Konglomerat von Zellen besteht, die durch eine zementartige Substanz verbunden sind. Diese zwei Bestandteile müssen nicht durchaus in Bezug auf die Permeabilität mit denselben Eigenschaften ausgestattet sein. Der Druck wird höchstwahrscheinlich in einer nicht-homogenen Membran größere Veränderungen bewirken als in einer homogenen. Überdies ist die Froschhaut auch noch in anderer Art heterogen: sie weist zahlreiche Drüsen auf, deren Epithel zweifellos von verschiedener Permeabilität gegenüber der der übrigen Oberfläche ist.

Seit du Bois-Reymonds Beobachtungen weiß man, daß von der Froschhaut eine elektromotorische Kraft ausgeht, jedenfalls wenn sie durch die üblichen Kochsalz-Elektroden abgeleitet ist.

Galeotti[1]) erklärt die Ursache dieser „Hautströme“ durch eine einleuchtende Theorie, nach welcher die elektromotorischen Eigenschaften nicht vorher bestehen, sondern durch die Natrium-Ionen der Elektroden hervorgebracht werden. Während wir annehmen, daß die Haut für diese Ionen von innen nach außen impermeabel sei, ist sie es in umgekehrter Richtung. Wenn diese Ionen ungehindert von außen durch die Haut gelangen, ist es klar, daß sie positive Ladungen von der Außenseite verdrängen und so in bekannter Weise diese Oberfläche elektronegativ machen. In dieser Theorie sind mehr oder weniger wichtige Punkte vorhanden, die durch Experimente geprüft werden müssen. Wir wollen sie der Reihe nach untersuchen. Die angenehme Einfachheit der Hypothese läßt es uns doppelt wünschenswert erscheinen, nachzusehen, inwiefern die experimentellen Resultate uns die besagten Eigenschaften der lebenden Gewebe erklären können, und auch zu verhüten, daß keiner derselben noch überhaupt einem bestehenden Gesetze Zwang angetan wird.

Die erste zu prüfende Frage ist die nach der allgemeinen Natur des elektrischen Zustandes der Haut in physikalischer oder

[1]) Zeitschr. f. physikal. Chem. 49, 542, 1904.

chemischer Hinsicht. Vorerst müssen wir daran erinnern, daß diese Eigenschaft nur so lange besteht, als die Haut lebend ist; diese Tatsache spricht allerdings weder für noch gegen ihren Ursprung in einer semi-permeablen Membran. Diese Membran könnte nur als solches vorhanden sein, solange die Zelle lebt.

In der Arbeit, die ich über diesen Punkt mit Bradford[1]) veröffentlicht habe, wurden Resultate erhalten, die auf die Wichtigkeit der osmotischen Phänomene hinwiesen, obschon zu jener Zeit die elektrische Theorie bei diesem Falle sehr wenig in Betracht kam.

Da man annimmt, die Haut sei so beschaffen, daß sich eine Konzentrationsbatterie im Sinne der Nernstschen Theorie darin befindet, dachte ich mir, daß die Messung der Umsetzung von elektromotorischer Kraft der Haut bei erhöhter Temperatur einige Aufklärung zum Stand der Dinge liefern würde. In der Konzentrationszelle ist die elektromotorische Kraft direkt proportional der absoluten Temperatur, so daß eine Steigerung um 10°, z. B. von 9° auf 19°, die elektromotorische Kraft nur im Verhältnis von 273 + 9 zu 273 + 19 gesteigert würde. Andererseits würde eine chemische Reaktion, wie sie diesem Phänomen zugrunde liegen könnte, verdoppelt oder verdreifacht werden, bei einer Temperaturerhöhung um 10, wenn sie von Umsetzungen im Protoplasma der Zellen herrührt, wie das bekannte Gesetz von van't Hoff besagt. In den zu diesem Zwecke vorgenommenen Versuchen begegnete man immerhin großen Schwierigkeiten, die durch das plötzliche Verschwinden der Hautströme entstanden. Ganz klar war, daß die Steigerung bei Temperaturerhöhung sehr klein war. Die Frage wurde nicht genügend weit verfolgt, um Zahlen angeben zu können. Nach Beendigung dieser Experimente entdeckte ich, daß das Thema eingehend durch Lesser[2]) behandelt worden ist. Obschon sich dieselben Schwierigkeiten geltend machten, war doch bei gewissen Experimenten die Abnahme langsam genug, um den Vergleich zwischen den Beobachtungen und den theoretischen Werten zu ermöglichen, berechnet auf

---

[1]) Journ. of Physiol. 7, 27, 1886.
[2]) Pflügers Archiv 116, 124, 1907.

Grund der Annahme ihrer Proportionalität zur absoluten Temperatur. Die Übereinstimmung war ausreichend.

In den verschiedenen Versuchen, die hier zur Sprache kommen, ergab sich, daß die Haut dadurch, daß man sie an das Ende einer Glasröhre band, leicht verletzt wird, so daß der Apparat wie nebenstehende Figur 1 wiedergibt, ausgeführt wurde und sich im Gebrauch als sehr praktisch erwies.

Die vertikale Höhe der Röhre bei *C* wurde so eingerichtet, daß sie derjenigen der Lösung im Becherglase gleichkam. Auf diese Weise konnten die osmotischen Eigenschaften der Haut geprüft werden, ohne sie einem Druck auszusetzen. Die Einfassungen der zwei Glasröhren werden mit Vaselin eingefettet und die Haut vorsichtig zwischen ihnen mit kleinen Klammern befestigt, die so angeordnet waren, daß sie die zwei Einfassungen und die Haut zwischen sich einschlossen. Vom Gebrauch des Elektroden wird später die Rede sein.

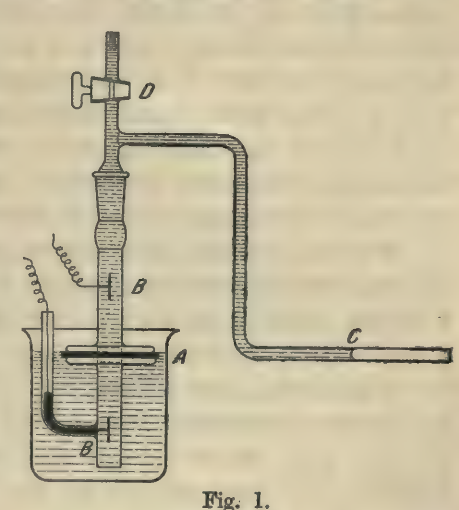


Fig. 1.

A Stück Haut zwischen Glaseinfassung mit Vaselin eingefettet.

B Platin-Elektroden, mit platin-schwarz plattiert.

C Flüssigkeitsmeniscus in einer engen Glasröhre.

D Hahn zum Einfüllen.

Was uns in der Annahme bestärkt, daß die elektromotorische Kraft der Haut nicht schon vorhanden ist, sondern durch die Natriumionen in den Elektroden hervorgerufen wird, ist die Tatsache, daß wenn ein Stück Haut vom Rücken des Frosches abgeschnitten, auf eine Kaolinmasse, die mit Ringerscher Lösung zu einer Paste verarbeitet wurde, gelegt wird und dann durch Ostwaldsche Kalomel-Elektroden, die mit Ringers Lösung versetzt waren, mit einem Galvanometer verbunden wird, so zeigt sich eine sehr geringe elektromotorische

Kraft. Dieser Vorgang geht in Verlauf von höchstens 5 oder 10 Minuten vor sich, hauptsächlich durch das Eindringen der Natriumionen.

Galeotti findet, daß bei Verwendung von Kaldiumchlorid-Elektroden überhaupt keine elektromotorische Kraft entwickelt wird. Er sieht hierin einen Beweis dafür, daß die Haut von Natur aus gegen Kaliumionen weder in der einen noch der andern Richtung durchlässig ist, so daß keine Möglichkeit einer Konzentrationsbatterie vorhanden ist. Daß unter diesen Bedingungen die Haut keine elektromotorische Kraft besitzt, beweist uns, daß letztere keine natürliche schon vorhandene Eigenschaft ist. Es muß allerdings daran erinnert werden, daß unter natürlichen Umständen die äußere Oberfläche der Froschhaut mit Kaliumsalzlösungen nicht in Berührung kommt.

Was das Fehlen jeder elektromotorischen Kraft bei Verwendung von Chlorkalium-Elektroden anbetrifft, kann ich nur Galeotti beistimmen; doch scheint mir, daß einige Tatsachen bei der Deutung noch in Betracht gezogen werden müssen.

Kaliumionen sind bekanntlich für die Protoplasmatätigkeit im allgemeinen außerordentlich giftig, so daß es leicht möglich ist, daß unter ihrem Einfluß die semi-permeable Natur der Membran, mit der wir es zu tun haben, total vernichtet wird, so daß die Haut nicht nur gegenüber Kaliumionen permeabel wird, sondern auch für Natrium- und alle anderen Ionen. Um diese Möglichkeit zu prüfen, untersuchte ich die Wirkung einer Lösung von 0,562 °/$_0$ NaCl plus 0,179 °/$_0$ KCl und fand, daß diese Lösung denselben Effekt hatte wie eine, die nur Kaliumchlorid allein enthielt.

Nun ist es unerklärlich, warum bei der Annahme, daß unter der Wirkung von Kaliumionen die Haut für Natriumionen impermeabel bliebe, keine elektromotorische Kraft entwickelt werde. Die Anwesenheit von Kaliumionen an sich sollte das Resultat, das durch die Natriumionen zustande kommt, nicht beeinträchtigen. Mir scheint, es sei daraus zu folgern, daß Kaliumsalz die Membrane wegen seiner toxischen Wirkung für beide permeabel macht.

Eingedenk des physiologischen Gegensatzes von Kalium- und Kalciumionen, wie sie zuerst durch Ringer[1]) dargetan

[1]) Journ. of Physiol. 4, 32, 1883.

wurde, schien mir der Versuch lohnend, den Effekt von Kaliumsalzen durch Hinzufügen von Kalciumsalzen zu der Lösung aufzuheben; doch blieb der Versuch bis jetzt ohne Erfolg. Wegen Zeitmangel versuchte ich nicht viele verschiedene Salzkonzentrationen, und höchstwahrscheinlich war die Menge der Kaliumionen in meinen Lösungen zu groß.

Was die Semipermeabilität der Haut als Ganzes anbelangt, ist es vielleicht von Interesse, wenn ich auf einige dahingehende Experimente kurz hindeute. Nachdem die Haut sorgfältig vom Bein eines Frosches abgestreift war, wurde sie an das Ende einer Glasröhre gebunden, mit Ringerscher Lösung gefüllt und in destilliertes Wasser getaucht; es ergab sich, daß Wasser in die Salzlösung hineindiffundierte, so daß die Flüssigkeitssäule in der Röhre allmählich stieg; nach 24 Stunden stand die Säule etwa 10 oder 12 cm oberhalb der Wasseroberfläche im äußeren Gefäß. Bei Verwendung von Kaliumchlorid trat keine Erhöhung ein. Es ist schwierig zu erklären, warum die Erhöhung nicht größer war als diese wenigen Zentimeter, wie lange auch der Prozeß fortgesetzt wurde. Ich neige zu der Ansicht, daß die Ausdehnung des Sackes und die dadurch bewirkte Lockerung zwischen den Teilen, aus denen die Membrane besteht, die Schuld daran trägt. Das war tatsächlich der Grund, der mich zur Konstruktion des Apparates (Fig. 1) veranlaßte, so daß es möglich wurde, festzustellen, ob die Haut in jedem beliebigen Falle ihre normalen osmotischen Eigenschaften besaß, was durch Beobachtung der Bewegung des Meniscus in der Röhre möglich war, oder wenn notwendig, mit Hilfe einer mikroskopischen Messung. Selbstverständlich beugte ich einer Täuschung durch „initiale“ Omose vor.

Bei einem anderen Experiment ähnlicher Art füllte ich zuerst Natriumchlorid von 0,9 $^0/_0$ ins Innere des Hautsackes und tauchte ihn in destilliertes Wasser wie vorhin. Nachdem ich mich überzeugt hatte, daß das normale Steigen der Flüssigkeit eintrat, vertauschte ich das Wasser mit 1 $^0/_0$ iger Kaliumchloridlösung. Es erfolgte kein Steigen der Flüssigkeit. Die Lösung von Kaliumchlorid wurde dann abermals durch destilliertes Wasser ersetzt; es trat kein Steigen in etwa 24 Stunden nach dem Wechseln der Lösung ein, doch erreichte die Flüssigkeit zuletzt beinahe dieselbe Höhe wie in der Norm.

Dieser Versuch beweist, daß die Haut sich wieder erholen kann, nachdem Kaliumsalz auf sie eingewirkt hat. Ebenso zeigt er, daß die geringe Erhebung der Flüssigkeit in der Röhre in den vorhergehenden Experimenten nicht auf Schädigung oder Absterben des Gewebes zurückzuführen ist, da eine beinahe normale Höhe nach 24 Stunden beobachtet wurde. Die Tatsache scheint zu zeigen, daß das Verschwinden der elektromotorischen Eigenschaften der Haut, wenn Natriumchloridelektroden angewendet werden, auf eine andere Ursache als auf den Stillstand der normalen Semipermeabilität des Gewebes selber zurückzuführen ist.

Es ist klar, daß Kaliumionen die Semipermeabilität im obigen Falle zerstört hatten; denn wenn die normale Impermeabilität gegenüber Natriumionen geblieben wäre, so hätte das Steigen der Flüssigkeitssäule normal sein müssen; da die Haut für Kaliumionen durchlässig ist, würde ihr Vorhandensein in bezug auf den osmotischen Druck gänzlich indifferent sein.

Der semipermeable Charakter der Froschhaut besteht nur partiell, da nur ein verhältnismäßig kleiner Druck ausgehalten werden kann. Damit übereinstimmende Resultate erhält man durch die Messung des elektrischen Widerstandes. Wenn eine Membran für die Elektrolyten jener Lösungen, welche sie voneinander trennt, total impermeabel ist, muß sie als Nichtleiter wirken. Die Ionen, welche durch ihre Wanderung den Strom von der Elektrode auf einer Seite eines solchen Diaphragmas zur andern tragen, können nicht durch die Membran hindurch und so ihre Ladungen nicht den Elektroden abgeben.

Diese Tatsache, daß eine Membran, die impermeabel für die Ionen der sie berührenden Lösungen ist, einen enormen Widerstand für den Durchgang des Stromes bildet, ist in der Arbeit von Berkeley und Hartley[1]) über den osmotischen Druck von konzentrierten Lösungen bewiesen. Eine bestimmte Kupferferrocyanidzelle hatte zu Anfang einen Widerstand von 2700 Ohm; als sie der elektrolytischen Wirkung ausgesetzt wurde, steigerte sich der Widerstand bis zu 300000 Ohm, um mehr als das Zehnfache. Wir neigten zu der An-

[1]) Phil. Trans. Roy. Soc. 206, 1906.

nahme, daß die Widerstandsfähigkeit im lebenden Zustande der Froschhaut weit größer als nach dem Kochen ist. Zu meiner Überraschung konnte ein Unterschied in der Widerstandsfähigkeit zwischen gekochter und lebender Haut nicht konstatiert werden. Im Apparat Fig. 1 stieg der tatsächliche Widerstand bei 15°, wobei die Haut in Kontakt mit 0,12 n-NaCl-Chlorid war, bis zu 2800 Ohm zwischen den Elektroden; praktisch übereinstimmende Werte wurden bei Anwendung von Filtrierpapier von der Dicke der Froschhaut gefunden. Diese Messung wurde mittels Wethams Modifikation der Kohlrauschschen Methode vorgenommen.[1]) Eine Erklärung für diese Erscheinungen vermag ich nicht zu geben.

Ich gehe über zur Betrachtung des interessanten Punktes über die irreziproke Permeabilität der Haut für Natriumionen. Nach Galeotti ist diese Membran permeabel für solche Ionen von außen nach innen, aber nicht in umgekehrtem Sinne.

Die Existenz einer solchen Membran ist vom physikalischen Gesichtspunkte aus schwer verständlich. Trouton und auch Bernstein[2]) haben die Struktur trichterförmiger Löcher angenommen. Jedoch, wie dem auch sei, zeigt uns ein wenig Überlegung, daß die dauernde Existenz einer solchen Membran als eine physikalische Struktur ein Ding der Unmöglichkeit ist. Wie von Overton auseinandergesetzt wurde, würde sie ein Perpetuum mobile darstellen. Da die Konzentration des Natriumsalzes auf einer Seite auf Kosten der andern steigen wird, ist es klar, daß daraus eine osmotische Leistung resultieren würde, und zwar so lange, als ihre charakteristische Eigenschaft bestehen bliebe und ohne irgendwelche äußere Einwirkung.

Obwohl dies so ist, so schließt es doch nicht die Möglichkeit von Beziehungen solcher Membranen zu lebenden Zellen aus. Ihre dauernde Existenz könnte unter diesen Umständen ermöglicht werden durch die Zufuhr der erforderlichen Energie durch die chemischen Reaktionen des Zellstoffwechsels. Zugleich ist es von äußerster Wichtigkeit zu sehen, ob sich solche Membranen irgendwie nachweisen lassen.

Galeotti behauptet, daß, wenn Wasser mit der inneren

---

[1]) Phil. Trans. Roy. Soc. 194, 1900.

[2]) Pflügers Archiv 109, 319, 1905.

Oberfläche der Haut und NaCl-Lösung mit der äußeren Oberfläche in Berührung tritt, daß dann das Wasser nach 1 oder 2 Stunden auf Silbernitrat reagiert; kehre man hingegen die Lage der beiden Flüssigkeiten um, so zeige sich in so kurzer Zeit keine Reaktion, eine schwache hingegen erscheine nach mehreren Stunden. Bei der Wiederholung dieses Versuches ist es mir nicht gelungen, mich von einem ausgesprochenen Unterschied zwischen beiden Fällen zu überzeugen. In der Annahme, daß vielleicht die mehr oder weniger ausgedehnte Berührung mit Wasser die Permeabilität der Haut ungünstig beeinflußt haben könnte, versuchte ich die Anwendung einer 7,4 $^0/_0$ igen Rohrzuckerlösung (also isotonisch mit 0,12 normal NaCl) an Stelle des destillierten Wassers, doch blieben die Resultate die gleichen. Indessen lege ich kein Gewicht auf diese Versuche, da ihre Zahl nicht groß genug war. Zweifellos würde der Unterschied nur ein quantitativer sein, und es wäre zur Erreichung befriedigender Resultate sehr sorgfältiges Arbeiten erforderlich.

Das gleiche gilt von verschiedenen Versuchen meinerseits, einen Unterschied in der Steighöhe der Flüssigkeitssäule bei ähnlichen osmometrischen Experimenten zu entdecken, wie sie oben beschrieben sind. Es gelang mir nicht, irgend einen Unterschied in der Wirkung zu konstatieren, wenn das Natriumchlorid in Berührung mit der inneren oder der äußeren Fläche der Haut trat.

Andererseits erhielt ich bei gewissen elektrischen Versuchen, die jetzt beschrieben werden sollen, Resultate, die keine andre Deutung gestatten als die, daß tatsächlich ein Unterschied im Grade der Permeabilität für Natriumionen in beiden Richtungen besteht.

Bei Überlegung der Folgen solcher ungleichmäßiger Permeabilität kam ich auf den Gedanken, daß eine solche Membran, wenn ein Wechselstrom durch sie geschickt würde, wie ein Gleichrichter wirken würde, da ja die Natriumionen in der einen, nicht aber in der andern Richtung ihre Ladungen transportieren würden.

Die ersten Versuche wurden vorgenommen, um festzustellen, ob ein Unterschied gefunden werden könnte in der relativen Stärke der Ströme in einem Stromkreis, in den die Haut ein-

geschlossen war, wenn dieselbe elektromotorische Kraft in entgegengesetzten Richtungen angewandt wurde. Zu diesem Versuch wurde der in Fig. 2 dargestellte Apparat benutzt. Es stellte sich die Unmöglichkeit heraus, befriedigende Ablesungen zu machen, da der Strom infolge von Polarisation innerhalb der Haut rapide fiel.

Ich nahm deshalb meine Zuflucht zu schnellen und kurzen Wechselströmen. Wenn der rotierende Wetham-Kommutator angewandt wurde, so kam der in der Zeichnung Fig. 2 dargestellte Stromkreis zur Anwendung.

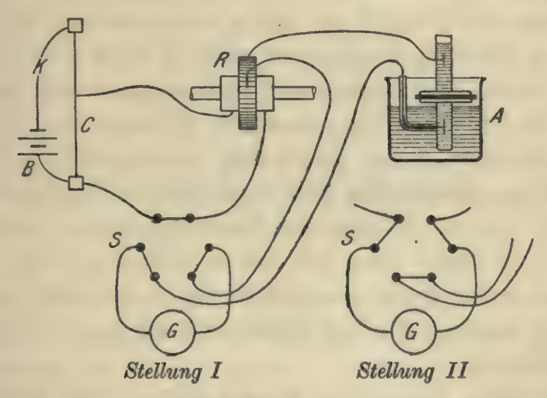


Fig. 2.

A Apparat für die Haut
B Batterie
C Gleichdraht
G Galvanometer
K Schlüssel
R rotierender Kommutator
S Schaltung

Mit Hilfe der Schaltung (Stellung 2) konnte der Strom durch ein Galvanometer geschickt und so gemessen werden, ehe der Kommutator ihn in einen Wechselstrom verwandelte. Drehte man die Schaltung in Stellung 1, so wurde das Galvanometer in den Teil des Stromkreises eingeschaltet, in dem der Strom wechselte und der die präparierte Froschhaut einschloß. Ist die eingeschaltete Membran eine indifferente, wie z. B. tote Haut, so sollte das Galvanometer keine Ablenkung zeigen,

vorausgesetzt, daß die beiden Phasen des Wechselstromes gleichen Verlauf haben.

Befestigte man die Haut in dem Apparat und brachte Ringersche Lösung auf ihre beiden Seiten, so gestaltete sich der Versuch folgendermaßen:

Stand die Schaltung in Stellung 2, so wurde der Strom durch den Gleitdraht auf die richtige Stärke gebracht, während der Kommutator rotierte. Die Schaltung wurde dann so gedreht, daß das Galvanometer im Wechselstromteile des Kreises war, d. h. in Position 1. Nun zeigte sich, daß eine Ablenkung des Galvanometers eintrat. Stand z. B. die Schaltung in Stellung 2, so betrug der Ausschlag 16 Teile nach links, in Stellung 1 hingegen nur 7 Teile. Bei stärkerem Strom infolge Umkehrung der Verbindungen mit der Batterie betrug in Position 2 der Ausschlag 55 nach rechts, in Position 1 32 nach links, d. h. also in derselben Richtung wie vorhin, obwohl die Richtung des Gleichstromes die umgekehrte war. Prüfte man die Richtung dieses „rektifizierten" Stromes, so ersah man aus seiner Richtung, daß ein Strom wohl von außen nach innen, nicht aber von innen nach außen passieren konnte. Das ist tatsächlich der Kern der Galeottischen Theorie.

Bei dieser Versuchsanordnung gibt es zwei Fehlerquellen. Erstens ist es möglich, daß zwei Phasen des Wechselstromes nicht ganz gleich sind infolge ungenauen Funktionierens des Kommutators. Bei der Prüfung dieses Punktes unter Anwendung von Filtrierpapier an Stelle der Haut zeigte es sich, daß eine kleine Abweichung der erwähnten Art vorhanden war. Diese wurde natürlich durch Wechseln der Verbindungen mit der Batterie umgekehrt. Da bei Verwendung der Haut die Richtung des Stromes ganz unabhängig von den Verbindungen mit der Batterie immer die gleiche war, so läßt sich diese Erklärung ausschließen. Eine andere Möglichkeit eines Irrtums ist die Erzeugung einer erregenden elektromotorischen Kraft infolge direkter Stimulierung der Drüsen durch den hindurch gesandten Strom. Dies ist aber deswegen ausgeschlossen, weil das benutzte Galvanometer nicht empfindlich genug war, um solche Vorgänge anzuzeigen. Der Reststrom erzeugte nur eine Ablenkung von ungefähr einem Teil der Skala, und es zeigte sich

bei dem Versuch, die elektromotorische Kraft zu messen, daß erforderlich wäre, einen Strom von ähnlicher Stärke wie die oben beobachteten durch denselben Stromkreis zu senden, der beinahe $^1/_{10}$ Volt betragen dürfte. Das ist erheblich mehr als bei irgendeinem bekannten Erregungsvorgange. Bei den schon erwähnten Versuchen von Bradford und hier betrug der erzielte Maximaleffekt ungefähr 0,025 Volt.

Soweit sich also feststellen läßt, wirkt die Haut als ein Gleichrichter und besitzt daher irreziproke Permeabilität. Bei Wiederholung dieser Versuche mit Strömen der sekundären Spule eines Du Bois-Reymondschen Apparates ergab sich, daß bei Strömen mit ähnlicher Stärke wie die für Nervenreizung verwendeten sich ein Ausschlag in der gleichen Richtung zeigte, einerlei ob die Verbindungen der primären oder sekundären Spule umgekehrt wurden. Bei Verwendung starker Ströme hingegen war die geringe Ablenkung in ihrer Richtung verändert, wenn der Strom in der primären Spule wechselte, wahrscheinlich war die Haut durch die starken Ströme abgetötet worden.

Diese Resultate, welche die Gleichrichtung eines Wechselstromes zeigen, lassen sich, soweit meine Erfahrung geht, nur erzielen, solange die Haut frisch ist. Nach 6 oder 7 Versuchen zeigte es sich, daß die Haut sich nicht mehr anders als eine indifferente Membran verhielt.

Im ganzen kann man sagen, daß meine Versuche die Galeottische Theorie stützen. Bezüglich der Wirkungsweise des Kaliumionen ist der einzige wesentliche Punkt, in dem wir verschiedener Meinung sind.

Die Eigenschaften der Froschhaut als einer halbdurchlässigen Membran sind nicht so klar definiert wie die der homogenen „Plasmahaut" der roten Blutkörperchen im klassischen Werke von Hamburger oder die der Muskelfasern in Overtons Versuchen. Die Eigenschaften, welche die Haut besitzt, scheinen teilweise die einer halbdurchlässigen Membran zu sein. Ihre interessanteste Eigenschaft ist die der irreziproken Permeabilität gegenüber Natriumionen. Aus diesem Grunde erscheint es mir wünschenswert, daß die oben beschriebenen Resultate auf jede mögliche Weise nachgeprüft werden.

Die Wirkung der Totalexstirpation sämtlicher Speicheldrüsen auf die sekretorische Funktion des Magens beim Hunde.

Von

John C. Hemmeter, M.D. Ph.D.

(Aus dem Physiologischen Institut der Universität Maryland, Baltimore.)

Aus klinischen Erfahrungen ist bekannt, daß Erkrankungen der Speicheldrüsen von verminderter Sekretion des Magens begleitet werden. Experimente, welche von Klinikern und Physiologen zu dem Zwecke ausgeführt wurden, die Sekretion der Speicheldrüsen auszuschalten oder zu zerstören, haben ergeben, daß solchen Versuchen gewöhnlich eine verringerte proteolytische Wirkung des secernierten Magensafts folgte.[1])

Spätere Arbeiten über das interessante Verhältnis dieser beiden Organe zueinander wurden von E. Biernacki, Zeitschr. f. klin. Med., **21**, Heft 1 und 2 veröffentlicht. Im „International Medical Magazine für August 1896 schrieb Julius Friedenwald eine Abhandlung über die Wichtigkeit des Speichels für die Magenverdauung.

Alle Forscher und Kliniker, die bisher über diese interessanten Beziehungen gearbeitet haben, suchten die Erklärung für den Einfluß des Speichels auf die Magensaftsekretion in

[1]) Siehe Wright, „Der Speichel", Ecksteins Handbibliothek des Auslandes, Wien 1844. Auch Bidder und Schmidt, „Die Verdauungssäfte und der Stoffwechsel", 1852. Siehe auch George Sticker, „Wechselbeziehungen zwischen Speichel und Magensaft", Volkmanns Sammlung klin. Vorträge d. inn. Med., Nr. 100, 297, S. 2699; derselbe Autor, Georg Sticker, hat noch eine Arbeit geschrieben, welche Licht wirft auf die Beziehungen zwischen Speicheldrüsen und Magen, in der Münch. med. Wochenschr. **1886**, Nr. 32 und 33, betitelt „Hyperacidität und Hypersekretion des Magensaftes".

der chemischen Zusammensetzung des Speichels selbst. Durch eine große Anzahl von Experimenten, die ich selbst an gesunden Studenten machte, überzeugte ich mich von der Richtigkeit der hauptsächlichen Schlüsse der vorhergenannten Forscher und Beobachter, d. h., daß die proteolytische Wirksamkeit entschieden stärker war, wenn Speichel den Probespeisen beigemischt war und wenn normales Kauen und Verspeichelung stattgefunden hatte, als wenn die Nahrung direkt durch eine Sonde in den Magen geführt worden war, und so der Speicheleintritt in den Magen verhindert war.

Daß diese durch das Fehlen des Speichels und Kauens verursachte Verminderung der Magenverdauung keine Folge des Verlusts an Ptyalin war, wurde durch Experimente an Hunden bewiesen, deren Speichel vorher als frei von Ptyalin befunden worden war. Bei zwei Hunden wurde die Speiseröhre durchgeschnitten und das obere und untere Ende dieser gespaltenen Röhre in die äußere Halshaut genäht.[1]) Auf diese Weise konnte man die Nahrung wieder zurück erhalten, die bereits vom Hunde gekaut und verspeichelt worden war. Zugleich erhielt man, wenn diesen Tieren eine einfache Magenfistel angelegt war, nach Scheinfütterung einen reinen und klaren Magensaft. Dieser Saft hatte im Durchschnitt dieselbe proteolytische und milchcoagulierende Kraft wie derjenige von Hunden mit einem künstlichen Magen. Man darf nicht vergessen, daß in jedem Falle der Saft von einer Magenschleimhaut gewonnen worden war, die mit der Nahrung nicht in wirkliche Berührung gekommen ist; denn selbst beim künstlichen Magen berührt die Nahrung nicht die secernierende Oberfläche. Es kann daher nicht der Einwand gemacht werden, daß die proteolytische Wirkung des gewonnenen Saftes durch im Speichel enthaltene peptogene Substanzen beeinflußt oder nicht beeinflußt worden war (oder daß die Nahrung mit Speichel vermischt war).

Wenn die Hunde gefüttert wurden, indem man ihnen Brot, Rindfleisch oder Milch direkt durch eine Sonde ohne Kauen oder Verspeicheln in den Magen führte, und die Nahrung dann wieder erhalten wurde, indem man sie entweder durch eine Magensonde ausheberte, wie es bei dem Probefrühstück geschieht,

---

[1]) Nach Pawlow; Ergebnisse d. Physiol. 1, 1. Abt., S. 256.

oder eine einfache Magenfistel anlegte, so ergab sich, daß man die Sekretion eines Magensaftes von beträchtlich verringerter proteolytischer und milchcoagulierender Kraft verursacht hatte — verglichen mit dem Magensaft desselben Hundes nach normalem Kauen und Schlucken seiner Nahrung —, oder verglichen mit dem Magensaft derselben Hunde nach „Scheinfütterung", — oder selbst verglichen mit dem aus einem künstlichen Magen erhaltenen Magensaft. Man muß die Tatsache nicht übersehen, daß der aus einer filtrierten Probemahlzeit gewonnene Magensaft nicht dieselbe proteolytische Kraft haben kann wie der reine Magensaft, den man auf eine der beschriebenen operativen Arten erhält, da einige der aktiven Bestandteile des Magensaftes in solche chemische Verbindungen mit der Nahrung eingehen, daß sie ihre physiologische Aktivität nicht mehr ausüben können. Daher ist es nicht logisch, den Magensaft aus filtrierter Probenahrung mit dem Magensaft aus einem künstlichen Magen zu vergleichen oder mit demjenigen mit einfacher Magenfistel, nachdem die Zufuhr von Nahrung in dieses Organ durch Speiseröhrendurchschneidung verhindert worden ist.

Im Laufe dieser experimentellen Versuche ergab sich nun, daß die verminderte Magenverdauung — nach Mahlzeiten, die nicht gekaut oder verspeichelt waren — nicht dem Mangel an Ptyalin zuzuschreiben war; denn es war erwiesen, daß bei einigen der Hunde der Speichel normalerweise frei von Ptyalin war.

In den vorangegangenen Experimenten an normalen Studenten waren wir schon zu dem Schlusse gekommen, daß dieselbe Verminderung der Magenverdauung nicht der chemischen Reaktion (Alkalinität) des Speichels zuzuschreiben war, da einige der Versuchspersonen regelmäßig neutralen Speichel aufwiesen; bei einigen war der Speichel sauer und bei anderen amphoter.

Bei immer neuen Experimenten und klinischen Beobachtungen tauchte der Gedanke auf, daß vielleicht der Einfluß der Speicheldrüsen auf die Sekretion des Magensaftes durch irgend etwas sich besonders in den Speicheldrüsen Bildendes hervorgerufen würde, d. h. durch eine von der Speichelsekretion vollständig getrennte und verschiedene Funktion.

Diese Frage konnte bei Hunden nur durch chemische

Analyse ihres Magensaftes geprüft werden, indem man eine quantitative Bestimmung seiner physiologischen Wirkungen vor und nach vollständiger Exstirpation der Speicheldrüsen anstrebte. Bei dem Versuche zur Lösung dieser experimentellen Frage waren es hauptsächlich drei Punkte, die sich aufdrängten.

Der erste war: Welche Wirkung hat die vollständige Entfernung der Speicheldrüsen auf die Sekretion des Magensaftes?

Der zweite: Wenn die Menge der Sekretion sowohl hinsichtlich der proteolytischen als der milchcoagulierende Kraft vermindert ist, d. h., wenn die Menge von HCl und Fermenten verringert würde, kann sie dann wieder entweder durch Verfütterung von Speichel drüsen oder von ihren Extrakten direkt mit der Nahrung oder durch Injektion von Extrakten der Speicheldrüsen in die Zirkulation zu ihrer Norm zurückgeführt werden?

Der dritte Punkt betrifft die Methode, mittels welcher der Magensaft gewonnen werden sollte. Soll er gewonnen werden: a) durch Aushebern des Probefrühstücks durch eine Magensonde, b) durch einen künstlichen Magen, c) durch eine einfache Magenfistel?

Eine Gewinnung des Magensaftes nach der Spaltung der Speiseröhre durch „Scheinfütterung" entsprach nicht unserem Zweck, da solche Tiere die Nahrung nicht mehr in der gewöhnlichen Weise schlucken können und das normale Kauen und Schlucken für das Studium gewisser aktueller Probleme wesentlich war.

Die Anlegung eines kleinen Magens nach Pawlow ist, meiner Erfahrung nach, immer eine sehr schwere Operation und bei persönlichen Erkundigungen in amerikanischen physiologischen Laboratorien habe ich gefunden, daß es anerkanntermaßen eine schwierige Sache ist, ein solches Tier über die Folgen einer derartigen Operation zur vollständigen Wiederherstellung zu bringen. Wenn jedoch die Operationen der Exstirpation der Speicheldrüsen schon vorangegangen sind, so wird die Operation des künstlichen Magens eine viel ernstere, und es gehen daran mehr Tiere zugrunde, als dieses ohne Entfernung der Speicheldrüsen der Fall gewesen wäre. Die Exstirpation der Speicheldrüsen hat durch mehrere Operationen zu erfolgen. Es hat sich als recht empfehlenswert herausgestellt, erst diejenigen auf der einen Seite zu entfernen, näm-

lich die Parotis orbitalis, Submaxillaris und Sublingualis, und dann einen Monat bis zur vollständigen Wiederherstellung zu warten. Alsdann werden die Drüsen auf der anderen Seite in derselben Weise entfernt, und wieder drei bis vier Wochen zur vollständigen Heilung gewartet, ehe die Operation des künstlichen oder Pawlowschen Magens unternommen wird. Es ist natürlich absolut notwendig, die Magensaftsekretion vor und nach dem Entfernen der Speicheldrüsen zu prüfen, auch muß die Operation der Anlegung eines künstlichen Magens derjenigen der Exstirpation der Speicheldrüsen vorangehen, — im Falle der Magensaft auf diese Weise studiert werden soll. Die sog. Pawlow-Operation ist, meiner Erfahrung nach, eine so schwere, daß ich vor mehreren Jahren begann, eine neue operative Methode auszuarbeiten, die in kürzerer Zeit und mit weniger Nähen ausgeführt werden konnte. Ich glaube diese neue, vereinfachte operative Prozedur gefunden zu haben; sie ist in dem amerikanischen Journal of Physiology **17**, 321 veröffentlicht: „An improved operative Method of Forming an experimental accessory (Pawlow) stomach in the dog."

Hunde, die nach Pawlow operiert sind, zeigen häufig eine pathologisch vermehrte oder verminderte Sekretion, wenn man die Menge und die Wirkung der Sekretion mit derjenigen desselben Tieres bei identischen Probespeisen vergleicht in Fällen, wo der Saft durch „Scheinfütterung" gewonnen ist, nachdem die Tiere mit einer einfachen Magenfistel versehen worden sind. Pawlow spricht von diesen pathologischen Phänomenen, erwähnt aber bloß Weigerung der Nahrungsaufnahme, Erbrechen und Lähmungserscheinungen. Er erwähnt nicht besonders irgend welche Veränderungen der proteolytischen Wirksamkeit des Sekretes nach der Operation.[1])

Bei zweien meiner Tiere, an denen die Magensaftsekretion vor und nach der Pawlowschen Operation beobachtet wurde, war offenbar die Sekretion verändert; tatsächlich schwankten bei demselben Tiere die proteolytische und milchcoagulierende Kraft erheblich in den ersten zwei Wochen nach der Wiederherstellung. Pawlow nimmt an, daß die Störungen der Peristaltik und die Weigerung der Nahrungsaufnahme usw. reflek-

---

[1]) Ergebn. d. Physiol. 1, 260.

torisch durch Beeinflussung der Nervenfasern verursacht werden, die sich in dem Gewebe, das den kleinen mit dem großen Magen verbindet, hinziehen. Es ist wahrscheinlich, daß die Sekretionsstörungen, die ich beschreibe, eine Folge derselben Nervenbeeinträchtigung sind. Diese sekretorischen Störungen hören zwei bis drei Wochen nach der Operation auf. Für unseren Zweck ist es wichtig, zu berücksichtigen, daß die Sekretion des kleineren Magens nicht immer ein richtiger Nachweis für die sekretorische Tätigkeit ist, die der Tiermagen unter normalen Bedingungen zu leisten vermag; z. B. konnte man bei einigen unserer Experimente mit Pawlowschen Hunden nach Exstirpation der Speicheldrüsen absolut keinen Magensaft aus dem kleinen Magen erhalten, wenn aber das Tier längere Zeit beobachtet wurde, kehrte die Magensaftsekretion allmählich bis zu einem gewissen Grade zurück, erreichte aber nie mehr ihre normale proteolytische oder milchcoagulierende Kraft.

Obgleich der künstliche Magen unentbehrlich ist, wenn das Objekt reiner Magensaft — unvermischt mit Nahrung — sein soll, so ist dies für unsern Zweck nicht absolut wesentlich. Wenn wir einen Begriff von der proteolytischen und milchcoagulierenden Kraft des Magensaftes vor Exstirpation der Speicheldrüsen durch Abfluß der Nahrung mittels einer einfachen Magenfistel gewinnen können und dann später diesen selben Magensaft nach Entfernen der Speicheldrüsen beobachten können, so ist das alles, was für das Primärobjekt des Experiments erforderlich ist.

Diese Methode wurde von Tarulli und Pascucci 1901 angewandt, als sie den Einfluß der Milzexstirpation auf die Verdauungskraft des secernierten Magensafts beobachteten.[1]) Demgemäß werde ich in dieser Mitteilung nur über die an Hunden mit einfacher Magenfistel vor und nach Exstirpation sämtlicher Speicheldrüsen gemachten Beobachtungen berichten, und diejenigen, die an Hunden mit Pawlowschen Magen gemacht wurden, für eine spätere Veröffentlichung aufbewahren; denn sie sollten aus gewissen Gründen, die später anzugeben sind, in eine eigene Gruppe eingereiht werden.

---

[1]) Physiologie des Menschen von Luigi Luciani, deutsche Übersetzung von Baglioni und Winterstein, 2, 151.

Analytische Methoden.

In Anbetracht der Verwirrung, die noch besteht in bezug auf Wert, Genauigkeit und Anwendbarkeit der verschiedenen Methoden, die Menge freier und gebundener vom Magen secernierter HCl zu bestimmen[1]), hielt ich mich an keine der Methoden, um die Menge freier und gebundener HCl festzustellen. Wenn der Magensaft dem Anschein nach freie HCl enthielt — nach Günzbergs Reaktion (Phloroglucin, Vanillin) oder nach der Resorcinprobe von Boas —, so wurde die Menge freier und gebundener HCl nach Hoffmann-Ostwald bestimmt, wie dies in H. J. Hamburgers bekanntem Werk „Osmotischer Druck und Ionenlehre“ 2, 499 beschrieben ist. Wir wandten auch Töpfers Methode an, sie immer ergänzend durch die Phloroglucin-Vanillinprobe. Die milchcoagulierende Kraft wurde beurteilt nach der Zeit, die erforderlich war, um in 5 ccm Milch mittels $^1/_2$ ccm Magensaftfiltrats Coagulation zu verursachen. Die proteolytische Wirksamkeit wurde nach Mett gemessen und die Methode gewöhnlich durch die von Hammerschlag kontrolliert[2]), vorausgesetzt, daß genügend Magensaft gewonnen worden war, um beide Methoden auszuführen. Nierenstein und Schiff[3]) haben Metts Methode sehr wesentlich vervollkommnet, und ihre Abänderung kam zur Anwendung. In sehr zweifelhaften Fällen, wenn keine Wirkung auf Mettsche Röhrchen erfolgte, verwendeten wir nach Chittenden präpariertes Blutfibrin[4]); aber wir können diese Experimente mit Fibrin außer acht lassen, denn, wenn alle Proben für freie und gebundene HCl negativ waren und keine Einwirkung auf die Mettschen Röhrchen erfolgt war, so war auch gewöhnlich keine merkliche proteolytische Wirkung bei Blutfibrin als Substrat zu verzeichnen.

Im fünften Jahrgang der Ergebnisse der Physiologie, S. 622 u. ff., ist die ganze moderne Literatur über Eiweißverdauung im Magen kritisch von Edgar Zunz bearbeitet worden. Wir beziehen uns auf die von ihm auf Seite 640 und 641 angeführten

---

[1]) Siehe Magensäure des Menschen von Martius und Lüttke, siehe auch Hemmeters Diseases of the Stomach, third edition.

[2]) Wiener klin. Rundschau 1895, Nr. 23.

[3]) Arch. f. Verdauungskrankheiten 8.

[4]) Americ. Journ. of Medical Sciences 3, 39.

Daten, um die Tatsache darzutun, daß die zur vollständigen Magenverdauung erforderliche Zeit je nach der Menge des verzehrten Eiweißes schwankt. Die Behauptung verschiedener Physiologen, es sei unwahrscheinlich, daß man freie HCl aus einem Hundemagen 2 bis $2^1/_2$ Stunden nach Fütterung mit Fleisch erhalten kann, ist unzutreffend, denn dieses hängt vollkommen von der Menge und der Beschaffenheit des Fleisches ab. Einige der angegebenen Ziffern zeigen eine vollständige Verdauung von 100 g rohen Rindfleisches innerhalb von 2 Stunden, während 100 g gebratenes oder geschmortes Rindfleisch 3 bis 4 Stunden erforderten. Bei Fütterung gesunder Hunde mit 50 bis 100 g rohem Rindfleisch war es immer möglich, Reaktion auf freie HCl in $2^1/_2$ Stunden zu erzielen.

Um den Einfluß der Speicheldrüsen auf die Magensaftsekretion oder die Wirkung der Exstirpation dieser Drüsen darzutun, wird es notwendig sein, die Experimente im Hinblick auf Beantwortung folgender vier verschiedener Punkte einzurichten:

1. Die normale Proteolyse- und Milch-Koagulationszeit nach bekannten Mahlzeiten von Brot, Fleisch und Milch:

   a) wenn der Chymus durch Ausheberung mittels der Magensonde gewonnen wird,

   b) wenn er mittels einer einfachen Magenfistel erhalten wird.

2. Proteolyse- und Milch-Koagulationszeit nach vollständiger Exstirpation sämtlicher Speicheldrüsen — bei denselben Tieren nach denselben Probemahlzeiten.

3. Proteolyse- und Milch-Koagulationszeit beim Füttern der Tiere mit Brot und Rindfleisch, das bereits von normalen Tieren mit unversehrten Speicheldrüsen gekaut und eingespeichelt worden ist. Dies ist notwendig, um die Frage zu beantworten, ob die Wirkung der Speicheldrüsenexstirpation auf die Magensaftsekretion, wenn überhaupt eine beobachtet wird, dem Mangel an Speichel zuzuschreiben ist oder nicht.

4. Proteolyse- und Milch-Koagulationszeit des Magensaftes eines speicheldrüsenlosen Hundes nach Injektion von Speicheldrüsensaft bei Tieren:

   a) mit unversehrten Vagi,

b) mit gespaltenen Vagi — rechter Vagus im Hals durchgeschnitten, linker Vagus subdiaphragmatikal.

Tabelle 1, Serie A zeigt die proteolytische Kraft und Milch-Coagulationszeit eines Brot-, Fleisch- und Milchsaftes, gewonnen von drei Hunden vor der Entfernung der Speicheldrüsen. Serie B, Tabelle 2 gibt dieselben physiologischen Daten von Magensaftfiltraten nach mittels Magensonde vorgenommenen Probemahlzeiten. Tabelle C illustriert die Proteolyse- und Milch-Coagulationszeit der Hunde Nr. 1, 2 und 3 (derselben, auf die sich auch Tabelle 1, Seria A bezog), aber Serie C zeigt die Wirkung der Exstirpation der Speicheldrüsen. Beim Vergleich der physiologischen Wirkungen des Magensaftes der Hunde in den beiden Tabellen beobachtet man, daß beim Hund Nr. 1 in Serie A der Brotsaft eine proteolytische Kraft von 4,0 und 4,5 mm Mett ergab; aber nach Exstirpation der Speicheldrüsen wurde die proteolytische Kraft auf 0,5 und 0,8 mm Mett entsprechend reduziert. Alle Ziffern, die sowohl unter proteolytischer Kraft als unter Milch-Coagulationszeit angeführt sind, geben den Durchschnitt von 10 Untersuchungen wieder.

Wir kehren zu Hund 1, Serie A zurück; er zeigt eine Verminderung von 4 mm Mett bei normalen Speicheldrüsen auf 0,5 mm Mett, nachdem sämtliche Speicheldrüsen entfernt worden waren, ein Verlust von 3,5 mm Mett beim Brotsaft. Ähnlich war die Milch-Coagulationszeit bei diesem Hunde nur 2 Minuten und 30 Sekunden bei unversehrten Speicheldrüsen, er erforderte indes 3 Stunden und 10 Minuten, nachdem die Speicheldrüsen entfernt waren. Tabelle D zeigt die proteolytische und milchcoagulierende Wirkung von Brot, Fleisch und Milchsaft vor der Injektion von Speicheldrüsenextrakt, und dieselbe Tabelle enthält zum Vergleich die Erhöhung dieser physiologischen Tätigkeiten des Magensaftes desselben Hundes nach intravenöser Injektion von Speicheldrüsenextrakt. Die Tabellen D und E verzeichnen die Wirkungen intravenöser Injektion von Speicheldrüsenextrakt mit folgendem Unterschied: bei Tabelle D wurde der Chymus durch eine einfache Magenfistel gewonnen, bei Tabelle E jedoch mittels einer Magensonde.

Bezüglich der vier Fragestellungen auf Seite 245 und 246

illustrieren die fünf angegebenen Tabellen die in den Nr. 1, 2 und 4 aufgeworfenen Fragen. Sie zeigen jedoch nicht die Wirkung der Zufuhr einer Nahrung, die bereits von normalen Tieren gekaut und eingespeichelt worden und von ihnen durch eine Ösophagusfistel gewonnen worden war. Dieses experimentelle Vorgehen war notwendig, um die Sicherheit zu gewinnen, ob die verringerte Magensaftsekretion nach Exstirpation der Speicheldrüsen dem Mangel an Speichel zuzuschreiben war oder nicht. Wenn die Magensaftsekretion wieder nach der Zufuhr von Nahrung eintrat, die von einem normalen Hunde gekaut und eingespeichelt worden war, so schien der Schluß gerechtfertigt, daß die verminderte Magensaftsekretion beim speicheldrüsenlosen Hunde dem Mangel an Speichel zuzuschreiben war und nicht dem Mangel einer inneren Sekretion der Speicheldrüsen.

Es ist wohl unnötig, noch eine Tabelle beizufügen, um die Wirkung der Ernährung mit bereits eingespeichelter Nahrung auf speicheldrüsenlose Hunde anzugeben; denn die Resultate dieser Versuche können in einem einzigen Satze zusammengefaßt werden. In keinem Falle, in dem die proteolytische Kraft und Milchcoagulation bei speicheldrüsenfreien Hunden entschieden verringert worden waren, konnten sie durch Fütterung mit bereits von normalen Hunden eingespeichelter Nahrung wieder erhöht werden.

Die intravenöse Injektion von Speicheldrüsenextrakt erwies sich als wirksam, um die verringerte proteolytische und milchcoagule Kraft wiederherzustellen, innerhalb einer Zeit, die je nach der Menge des injizierten Extraktes zwischen 6 und 10 Stunden schwankte; aber gewöhnlich konnte sie die physiologischen Fähigkeiten des Magensaftes nicht bis zum Normalstande wiederherstellen, der beobachtet worden war, ehe die Speicheldrüsen entfernt gewesen waren. So betrug beim Hund Nr. 1 die normale proteolytische Kraft vor Exstirpation der Speicheldrüsen 4,0 und 4,5 mm Mett. Sie fiel auf 0,5 und 0,8 mm Mett nach dem Entfernen der Speicheldrüsen, stieg aber wieder, nicht ganz bis zur Norm, indem sie 3,0 und 2,5 mm nach Injektion von Speicheldrüsenextrakt erreichte. Diese Ziffern beziehen sich nur auf den Brotsaft des Hundes Nr. 1.

Bezüglich der Wirkung des Schnittes durch die Vagi

auf das Resultat intravenöser Injektionen von Speicheldrüsenextrakt zeigt unsere experimentelle Arbeit, daß bei speicheldrüsenlosen Hunden, die von der Vagioperation sich erholt hatten (rechter Vagus im Halse durchschnitten, linker Vagus subdiaphragmatical) die intravenöse Injektion von Speicheldrüsenextrakt noch die Kraft besitzt, die verminderte Magensaftsekretion vorübergehend wiederherzustellen, jedoch nicht bis zum normalen proteolytischen und Coagulationsstande.

Diese Experimente zeigen, daß die Wirkung der Injektion von Speicheldrüsenextrakt nicht durch Vermittlung von Vagusfasern, sondern direkt auf die Zellen der Pepsindrüsen ausgeübt wird.

Die psychische Sekretion des Magensaftes bei Hunden ohne Speicheldrüsen.

Bei speicheldrüsenlosen Hunden, denen eine einfache Magenfistel angelegt ist, kann die psychische Sekretion des Magensaftes ebenso wirksam hervorgebracht werden wie bei Hunden mit unversehrten Speicheldrüsen. Dies läßt vermuten, daß ein Teil des Magensaftes, der noch nach Entfernung der Speicheldrüsen secerniert wird, der Bildung durch eine psychische Sekretion zuzuschreiben ist, veranlaßt durch Eindrücke auf die Sinnesorgane des Hundes während er die Nahrung schmeckt, riecht und sieht. Da diese Eindrücke auf die Gesichts-, Geruchs-, Geschmacks- und sogar Gehörorgane während der normalen Fütterung der speicheldrüsenlosen Tiere unvermeidlich waren, so entstand die Frage, wieviel von der nach Exstirpation der Speicheldrüsen beobachteten Magensekretion dieser psychischen Sekretion zuzuschreiben ist? — Dies erforderte eine besondere Reihe von Experimenten, in denen die Tiere mittels einer Magensonde gefüttert wurden, nachdem ihnen Augen, Ohren und Nasenlöcher zugebunden worden waren. Speisen, die direkt durch eine Magensonde in den Magen eingeführt wurden und aus Brot, Fleisch und Milch bestanden, zeigten sich fähig, bei den speicheldrüsenlosen Hunden eine Magensaftsekretion hervorzubringen. In einigen Fällen wurden die Speisen, ohne Wissen des Hundes, durch eine Magenfistel eingeführt, und einmal hatte ich einen Hund mit einem künstlichen (Pawlowschen) Magen, bei dem die Scheidewand zwischen

dem größeren und den künstlich angelegten Teil des Magens derartig einriß, daß sie eine klappenartige Öffnung hinterließ, die es dem Beobachter ermöglichte, Nahrung durch den künstlichen Magen in den Hauptmagen des Tieres einzuführen. Diese Klappe wirkte jedoch derartig, daß Wasser vom Hunde in seinen Hauptmagen geschluckt werden konnte, und doch nichts von dem Wasser durch den künstlichen oder experimentellen Magen entwich. Bei diesem Tiere war es leicht, Nahrung einzuführen, ohne eine psychische Sekretion zu verursachen, und es ergab sich, daß bei speicheldrüsenlosen Hunden, bei denen psychische Sekretion erfolgreich verhindert wird, eine Magensaftsekretion nach gewissen Speisen eintritt. Diese Sekretion ist unzweifelhaft peptogenen Substanzen (den „Hormonen" von Starling) zuzuschreiben, die in der Nahrung selbst enthalten sind, oder dem sogenannten Pylorus-„Sekretin" oder Hormon von Edkins.[1])

Der Mechanismus der Magensaftsekretion

ist ein komplizierter. Pawlow hat im Anschluß an die Arbeit von Bidder und Schmidt die Existenz einer reinen und einfachen psychischen Sekretion auf physischer Basis, auf sicheren, experimentellen Wegen, festgestellt.

Tarulli und Pascucci haben in Luigi Lucianis Laboratorium[2]) Beobachtungen gemacht, die das Vorhandensein peptogener Substanzen nachwiesen, die während der Zeit der Verdauung aus der Milz extrahiert werden können.

Die vorliegende Reihe von Experimenten spricht deutlich für das Vorhandensein eines Hormons, das fähig ist, die Magensaftsekretion anzuregen; es kommt in den Speicheldrüsen vor und wirkt auf dem Wege des Blutkreislaufes. Bei Beginn dieser Beobachtungen fand man, daß gelegentlich Tiere mit künstlichem Magen und exstirpierten Speicheldrüsen absolut keine Magensaftsekretion zeigten; und auf dieses Phänomen wurden irrige Schlüsse gebaut, die in einer vorläufigen Mitteilung dargelegt, und in Science, Oktober 11, 1907, S. 473, New-York veröffentlicht sind. Es wurde darin behauptet, daß bei Hunden mit künstlichem Magen die Entfernung der

[1]) Journ. of Physiol. 34, 133, 1906.
[2]) Luciani, Physiologie des Menschen 2, 151.

Speicheldrüsen endgültig jede Magensaftsekretion aufhebe. Dies wurde als richtig bei drei Hunden beobachtet, die in der beschriebenen Weise operiert wurden, aber bei zweien dieser Tiere, die noch sechs Monate nach der Operation erhalten wurden, bemerkte man eine allmähliche Wiederkehr der Magensaftsekretion. Das vollständige Versagen der Magensaftsekretion, das manchmal nach irgend einer schweren Operation am Tiere beobachtet wird, ist die Folge einer direkten Schädigung des sekretorischen Apparates, verursacht durch die Operation selbst, oder die Einwirkung auf die Nerven, oder auch durch die Nervenreflexwirkungen; denn Pawlow behauptet, daß eine nur wenige Minuten andauernde Reizung des Sciaticus einen vielstündigen Stillstand der Magensaftsekretion verursachen kann.[1]) Es ist deshalb bei diesen Experimenten nötig, die Tiere lange zu beobachten und ihnen Zeit zur vollständigen Wiederherstellung zu lassen, ehe die chemische Untersuchung des Magensaftes unternommen werden kann. Im Gegensatz zu jenen Hunden, deren Magensaftsekretion unmittelbar nach einer Operation aufhört, haben wir gelegentlich ein Tier gefunden, dessen Magensaft nach Exstirpation der Speicheldrüsen weiter secerniert wurde. Wenn er auch nicht in normalen Mengen secerniert wurde, so war die Verminderung jedoch nicht derartig, wie wir sie durchschnittlich bei den anderen in den Tabellen verzeichneten Tieren finden. Wir sind der Ansicht, daß dieses Andauern der Magensaftsekretion einem abnormen Zustand des Drüsenapparates des Hundemagens vor Beginn der Operationen zuzuschreiben ist. Die pathologische Art der Sekretion, die in dieser Verbindung sehr verblüffend ist, besteht in Hyperacidität und Hypersekretion. Pawlow hat bereits einen Hund mit Hyperacidität beschrieben, und M. Pewsner[2]) schildert einen Hund, der an Hypersekretion litt. Die auffallendste Abnormität ist jedoch ein Zustand, den ich zuerst beschrieben und „Heterochylie“ benannt habe. Dies ist ein abwechselnder Zustand, einerseits von Magensaftsekretion, die sich durch ausgesprochenen Überschuß aller Saftbestandteile kundgibt, und andererseits

[1]) Work of the Digestive Glands.

[2]) Diese Zeitschr. 2, 344.

völligen Versagens der Sekretion nach ein und denselben Probespeisen. Daß dieser Zustand vorkommt, ist von J. Boas, Berlin, bestätigt worden.[1]) Alle derartigen Abnormitäten der Sekretion machen das Tier ungeeignet für diese Art von Untersuchungen.

Verschiedenheiten in der peptogenen Kraft der Speicheldrüsenextrakte.

Bei Beginn dieser Versuche etwa vor 5 Jahren, beobachtete ich eine beträchtliche Verschiedenheit der peptogenen Kraft der aus Speicheldrüsen hergestellten Extrakte. Sie wurden damals in einer ähnlichen Weise präpariert, wie dies W. N. Bayliss und E. H. Starling in „Ergebnisse der Physiologie", 5. Jahrgang, S. 672 angeben. Ich kann die Ursache der Verschiedenheiten in den physiologischen Wirkungen der Speicheldrüsenextrakte nicht erklären; aber man kann sie möglicherweise finden: a) in einer falschen Methode, den Extrakt zu bereiten, b) im nicht frischen Zustand der Drüsen zur Zeit der Extrakion, c) in der Herstellung des Extraktes aus Drüsen im Ruhezustand und nicht aus solchen, die gearbeitet haben. Kürzlich sind solche Extrakte von Dr. T. B. Aldrich, bei Parke, Davis & Co., Detroit, Michigan, für mich hergestellt worden.

Methode der Präparierung der Drüsenextrakte.

Das Bindegewebe wurde so weit wie möglich entfernt, und die Drüsen durch Zermahlen mit Quarzsand in einen Brei verwandelt. Dieser Brei wurde dann bei einer Temperatur von 45 bis 50° C mit schwach essigsaurem Wasser ausgezogen. Die Temperatur wurde gelegentlich auf 80 oder 90° C gesteigert, und der Extrakt durch Papier filtriert. Da das Filtrat trübe war, wurde ein gleiches Volumen Alkohol von 94% hinzugefügt und diese angenähert 50%ige alkoholische Lösung wiederum filtriert; dann war das Filtrat vollkommen klar. Es wurde dann im Vakuum bis zu einem kleinen Volumen verdampft und zu der zurückbleibenden Lösung das dreifache Volumen 94%igen Alkohols hinzugefügt und dann filtriert. Das Filtrat wurde im Vakuum verdampft, und wenn der

[1]) Archiv f. Verdauungskrankheiten 8, 75.

Alkohol entfernt war, die entstandene Lösung filtriert und mit Chloreton versetzt.

Andere Irrtumsquellen.

Drei Quellen eines möglichen Irrtums wurden geprüft, um das Verhältnis der Speicheldrüsen zur Speichelsekretion klarer zu stellen.

1. Haben andere Drüsenextrakte oder die Produkte von Ptyalin die gleiche Wirkung im Anwachsen der Magensaftsekretion? In diesem Zusammenhang fand man, daß Lymphdrüsenextrakt unwirksam war, aber Extrakt aus Milz, entnommen von Hunden auf der Höhe der Magenverdauung, eine ähnliche, aber weniger ausgesprochene Wirkung hatte, wenn er intravenös injiziert wurde. Die Einwirkungsprodukte von Ptyalin auf Kohlehydrate, Glucose, Dextrose, Maltose, übten keine solche Wirkung aus.

2. Kommen abnorme Speicheldrüsen bei Hunden vor? Zur Zeit als die erste Mitteilung über diesen Gegenstand veröffentlicht wurde, Juni 1907, waren wir nicht imstande, irgend welche anomalen Speicheldrüsen zu finden; aber am Schluß jener Reihe von Experimenten wurde zufällig bei einem in der Äthernarkose eingegangenen Hunde eine überzählige Speicheldrüse entdeckt. Diese Drüse hatte die Struktur der Parotis und wurde dort gefunden, wo gewöhnlich die Tonsille sitzt.

3. War die Magenschleimhaut bei den Hunden, deren Sekretion vermindert war, histologisch normal, oder war eine Entzündung hinzugekommen, welche die sekretorischen Zellen hätte zerstören können? Als Antwort hierauf habe ich mitzuteilen, daß bei einigen der Mägen nach dem Tode histologische Untersuchungen angestellt wurden und man keine Spur von Gastritis fand.

Es ist unsere Erfahrung gewesen, daß jedes lange Andauern einer normalen Magensaftsekretion bei Entfernung sämtlicher Speicheldrüsen einem der drei folgenden Faktoren zuzuschreiben war: a) daß die Lobulen der Parotisdrüsen nicht vollständig entfernt worden waren. Dies ist für die chirurgisch vollkommene Exstirpation die schwierigste Drüse; b) daß die psychische Sekretion nicht vollständig eliminiert worden war, die, wenn sie überhaupt einsetzt, in der Nahrung peptogene

Substanzen erzeugt, die fähig sind, die Bildung des Pylorus-Homons oder Sekretins, wie es zuerst von Edkins beschrieben, anzuregen; c) daß Abnormitäten der Sekretion vorhanden waren, ähnlich den im vorangegangenen beschriebenen.

Die Complexität des Mechanismus der Magensaftsekretion.

Wenn die Sekretion irgend eines Drüsenorganes von so vielen mitwirkenden Faktoren abhängt, wie jenen, mit denen wir bei der Magensaftsekretion vertraut geworden sind, so ist es nicht logisch, zu erwarten, daß die Elimination eines jeden einzelnen dieser mitwirkenden Faktoren das vollständige Aufhören der Sekretion in jenem Organ hervorbringt. Wir wissen jetzt, daß der Mechanismus der Magensaftsekretion von drei, möglicherweise von vier Erregungsquellen abhängig ist: 1. die Vagus- oder die psychische Sekretion, 2. das Pylorus-Sekretin oder Hormon von Edkins, 3. die milzpeptogene Substanz oder das Hormon von Tarulli und Pascucci, und es ist der Zweck dieser Mitteilung, die Aufmerksamkeit auf eine ähnliche Substanz zu ziehen, die in den Speicheldrüsen gebildet und nicht mit dem Speichel abgesondert wird, sondern den Magen durch den Blutlauf erreicht und hier einen der Anreize für die Magensaftsekretion bildet. Um die Größe der erregenden Kraft eines jeden dieser vier Faktoren mit Genauigkeit zu demonstrieren, wäre es notwendig, die anderen drei zu eliminieren; z. B., um die ausschließliche Wirkung der Speicheldrüsen auf die Magensaftsekretion zu beweisen, müßte der Versuch gemacht werden, einen Hund zu ernähren: erstens nach einem Schnitt durch beide Vagi, um die psychische Sekretion zu eliminieren, zweitens nach operativer Entfernung des Pylorus-Endes vom Magen, um die Wirkung der Pylorus-Sekretion von Edkins zu eliminieren, und drittens nach Exstirpation der Milz.

Wenn nach diesen Operationen der Magensaft noch immer abgesondert würde, und wenn nach Entfernen der Speicheldrüsen diese Sekretion vollständig nachließe, so würde der Einfluß der Speicheldrüsen auf die Erregung der Magensaftsekretion ohne Zweifel festgestellt sein; aber selbst wenn ein Tier glücklich alle diese schweren Operationen überstehen würde, bleibt es doch zweifelhaft, ob die Schlußfolgerung dann ein-

wandsfrei ist. Nach dem, was wir über die Empfindlichkeit des Magendrüsenapparates wissen, ist es höchstwahrscheinlich, daß das Tier eine Einbuße an der Sekretion durch die direkten und indirekten Einflüsse dieser verschiedenen Operationen aufweisen würde.

Übersicht und hauptsächliche Schlußfolgerungen.

1. Bei Hunden mit einfacher Magenfistel bewirkt die Exstirpation sämtlicher Speicheldrüsen eine ausgesprochene Verminderung der Magensaftsekretion. Dies geht auch aus der Analyse der Probenahrung hervor, die durch Ausheberung von Tieren mit intaktem Magen gewonnen ist. Es ist notwendig, die psychische Sekretion zu verhindern, um das beschriebene Phänomen hervorzubringen.

2. Selbst bei Tieren mit intakten Vagi kann es zuweilen vorkommen, daß die Entfernung sämtlicher Speicheldrüsen eine entschiedene Abnahme der Magensaftsekretion verursacht. Es scheint sogar in diesen Fällen ein ursächliches Verhältnis zwischen dem Verlust der Speicheldrüsen und der verminderten proteolytischen und milchbildenden Fähigkeit des Magensaftes zu bestehen.

3. Bei speicheldrüsenlosen Hunden, bei denen die Magensaftsekretion erheblich vermindert worden ist, wird diese durch Verabfolgung einer Nahrung, die von anderen normalen Hunden gut gekaut und eingespeichelt worden ist, nicht wieder bis zur Norm hergestellt.

4. Wenn die Magensaftsekretion vermindert ist, kann eine vorübergehende Wiederherstellung durch intravenöse oder peritoneale Injektion von Extrakten erzielt werden, die aus den Speicheldrüsen normaler Hunde hergestellt worden sind.

5. Diese vorübergehende Wiederherstellung der Magensaftsekretion findet sogar statt, wenn der Magen vom Zentralnervensystem isoliert ist.

6. Die chemische Koordination der Magensaftsekretion wird durch Hormone bewirkt, die verschiedenen Ursprunges sind; einige sind in der Nahrung selbst enthalten (Schiff, Bayliss und Starling); andere stammen aus der Pylorusschleimhaut (Edkins), wieder andere haben ihre Herkunft in der Milz (Luciani), und die vorliegenden Experimente

weisen auf das Vorhandensein eines Magensaftsekretion erregenden, in den Speicheldrüsen gebildeten „Hormons“ hin. Speicheldrüsenextrakt wirkt nicht anregend auf die Magensaftsekretion, wenn er mit der Nahrung eingegeben oder direkt in den Magen eingeführt wird. Im frischen Zustand zermahlen, verursachen Speicheldrüsen annähernd die gleiche Magensaftsekretion wie eine äquivalente Menge Rindfleisch.

Es ist möglich, daß diese verschiedenen chemischen Mechanismen verschiedene Wirkungen auf die Magensaftsekretion ausüben.

Es wird unsere Aufgabe in einer künftigen Arbeit sein, auszuführen, daß die rein nervöse oder psychische Sekretion und die Magensaftsekretion, die durch chemische Erregung oder Hormone aufrecht gehalten wird, obwohl sie beim normalen Tiere gleichzeitig wirksam sind, verschiedene Zwecke haben; die psychische Sekretion bewirkt die primäre Phase der Sekretion, d. h., die Befreiung von prozymogenen Elementen und von Säure schon in den Sekretionszellen, und die chemischen Mechanismen beherrschen die sekundäre Phase oder die Wiederherstellung des Cytoplasmas.

Bei früheren Beobachtungen über Exstirpation der Speicheldrüsen wurde der Tatsache, daß Tiere ohne Speicheldrüsen ziemlich gut leben und verdauen können, zu viel Bedeutung beigelegt. Bei dieser Behauptung können wir uns darauf berufen, daß Tiere auch ziemlich gut leben und verdauen können, wenn ihnen die Milz, ja selbst wenn ihnen der ganze Magen herausgeschnitten worden ist. Wie in vorstehendem gezeigt worden ist, schließt die Mitwirkung der Speicheldrüsen bei Bildung von Pepsin und Salzsäure die Möglichkeit nicht aus, daß Pepsin und Salzsäure auch bei Abwesenheit der Speicheldrüsen gebildet werden können. Es ist z. B. bewiesen worden, daß die Milz eine wichtige Rolle bei der Bildung von Trypsin aus dem entsprechenden Zymogen spielt.[1]) Es war schon von M. Schiff 1862 angenommen worden, daß die Milz auf der Höhe der Verdauung eine Substanz in das Blut absondert, die von dem Pancreas zur Bildung von Trypsin verwendet wird, und, obgleich seine Resultate skeptisch aufgenommen worden sind, so wurden sie später von Herzen, Cachet

[1]) Luciani, l. c. 78.

und Pachon bestätigt. Noch später erzielten F. Bellamy, Mendel und Rettger Ergebnisse, welche die Lehre von Schiff bestätigten; so steht es heute fest, daß die Milz bei der Bildung von Trypsin aktiv beteiligt ist; aber dessenungeachtet hat man gefunden, daß die Pancreasdrüse von Tieren, denen die Milz vollständig ausgeschnitten worden war, Trypsin enthält. Dieser Streit über die Beziehung der Milz zur Bildung von Trypsin ist lehrreich; er wirft auch ein Licht auf die Beziehung der Speicheldrüsen zum Magen. Die Tatsache, daß Pepsin und HCl bei Abwesenheit der Speicheldrüsen gebildet werden können, darf nicht als Beweis dafür gelten, daß die Speicheldrüsen keine peptogene Substanz bilden. Die vorstehend beschriebenen Experimente sprechen zur Genüge für die Lehre, daß die Speicheldrüsen einen Einfluß auf die Bildung der Magensaftsekretion ausüben.

Es ist meine Pflicht, zum Schluß den Chirurgen der Universität Maryland für ihren geduldigen Beistand bei all diesen Operationen zu danken, die ohne eine vollkommene operative Technik nicht erfolgreich hätten durchgeführt werden können. Mein Dank gilt hauptsächlich den Professoren Frank Martin, St. Clair Spruill und J. Mason Hundley.

Tabelle A.

Durchschnitt von 10 Analysen von einem Hunde mit einfacher Magenfistel. Analysen des Magensaftes vor Entfernung der Speicheldrüsen.

Nr. des Tieres	Menge des Magensaftes, der zur Milch gesetzt wurde	Brotsaft			Fleischsaft			Milchsaft		
		Verdauungsvermögen nach Mett	Koagulationszeit		Verdauungsvermögen nach Mett	Koagulationszeit		Verdauungsvermögen nach Mett	Koagulationszeit	
	ccm	mm	Min.	Sek.	mm	Min.	Sek.	mm	Min.	Sek.
1	0,5	4,0	2	30	3,0	3	5	2,5	25	—
1	0,5	4,5	3	—	2,6	3	5	1,9	28	—
2	0,4	5,2	2	20	3,05	4	8	2,45	24	—
2	0,3	5,0	2	20	3,6	2	5	2,6	30	40
3	0,55	4,8	2	35	3,8	3	8	2,2	22	—
3	0,55	4,5	2	30	4,2	3	5	2,5	20	30

Diese Zahlen sind mit filtriertem Magensaft erhalten; sie weisen daher nicht die Verdauungskraft auf, die man gewöhnlich bei künstlichem oder Pawlowschen Magen erhält.

Durchschnittliche Acidität des Brotsaftes: 45 in 1000 } titrimetrisch
" " " Milchsaftes: 48 in 1000 } als HCl
" " " Fleischsaftes: 50 in 1000 } berechnet.

Tabelle B.

Analyse des Verdauungs- und Milchkoagulierungsvermögens eines filtrierten Magensaftes, der nach einer Probemahlzeit von Brot, Fleisch und Milch ausgehebert war. Das Gewicht der Hunde schwankte zwischen 7 und 8 kg. — Die zur Verdauung von 100 g rohem Fleisch erforderliche Zeit betrug im Durchschnitt 7—8 Stunden. Nach 8 Stunden wurde der Magen leer befunden. Die Speicheldrüsen waren vorhanden.

Nr. des Tieres	Menge des Magensaftes, der zur Milch gesetzt wurde	Brotsaft			Fleischsaft			Milchsaft		
		Verdauungsvermögen nach Mett	Koagulationszeit		Verdauungsvermögen nach Mett	Koagulationszeit		Verdauungsvermögen nach Mett	Koagulationszeit	
	ccm	mm	Min.	Sek.	mm	Min.	Sek.	mm	Min.	Sek.
4	0,5	5,0	3	—	3,5	4	—	2,45	20	—
4	0,4	5,2	3	30	3,6	4	30	2,4	25	—
5	0,5	4,5	3	40	3,6	4	6	2,6	22	—
5	0,4	4,8	3	30	3,8	3	50	2,6	22	30
6	0,4	4,6	2	30	4,—	3	8	1,9	24	—
6	0,5	4,8	2	40	3,8	4	—	2,0	25	—

Durchschnittliche Acidität des Brotsaftes: 42 in 1000 }
„ „ „ Milchsaftes: 46 in 1000 } titrimetrisch als HCl berechnet.
„ „ „ Fleischsaftes: 52 in 1000 }

Tabelle C.

Magensaft vom Hund mit einfacher Magenfistel nach Entfernung der Speicheldrüsen. Analysen des Verdauungs- und Milchkoagulierungsvermögens von filtriertem Magensaft, der nach einer Probemahlzeit aus Brot, Fleisch und Milch gewonnen war.

Nr. des Tieres	Menge des Magensaftes, der zur Milch gesetzt wurde	Brotsaft			Fleischsaft			Milchsaft		
		Verdauungsvermögen nach Mett	Koagulationszeit		Verdauungsvermögen nach Mett	Koagulationszeit		Verdauungsvermögen nach Mett	Koagulationszeit	
	ccm	mm	Min.	Sek.	mm	Min.	Sek.	mm	Min.	Sek.
1	0,5	0,5	3	10	0,5	3	50	0,3	4	20
1	0,6	0,8	2	50	0,6	2	50	0,5	3	50
2	0,6	1,0	2	25	0,8	3	10	0,5	4	30
2	0,5	1,0	2	25	0,9	3	5	0,3	4	35
3	0,4	0,8	3	—	0,5	3	10	0,4	4	50
3	0,5	0,8	3	30	0,5	3	5	0,5	4	35

Tabelle D.

Speicheldrüsenlose Hunde. Verdauungs- und Milchkoagulationsvermögen nach Entfernung der Speicheldrüsen; einfache Magenfistel (s. Tabelle C. 1). Vor Injektion des Speicheldrüsenextraktes. — Vergleich mit der Wirkung intravenös injizierten Speicheldrüsenextraktes. — Prüfung des Saftes 1 bis 2 Stunden nach Verabfolgung von 150 g rohem Fleisch oder 150 g Brot oder 150—200 ccm Milch. Intakte Vagi. Nach Injektion von Speicheldrüsenextrakt.

Nr. des Hundes	Brotsaft		Fleischsaft		Milchsaft		Menge des in die Femuralis injizierten Speicheldrüsenextraktes	Zeit der Injektion des Extraktes	Zeit 1,30 nachm. Brotsaft		Zeit 1,30 nachm. Fleischsaft		Zeit 1,30 nachm. Milchsaft	
	Verdauungsvermögen nach Mett mm	Koagulationszeit M. S.	Verdauungsvermögen nach Mett mm	Koagulationszeit M. S.	Verdauungsvermögen nach Mett mm	Koagulationszeit M. S.		vormittags	Verdauungsvermögen nach Mett mm	Koagulationszeit M. S.	Verdauungsvermögen nach Mett mm	Koagulationszeit M. S.	Verdauungsvermögen nach Mett mm	Koagulationszeit M. S.
1	0,5	3 10	0,5	3 50	0,3	4 20	5 ccm in 5 ccm $^{n}/_{1}$-Salzlösung	10,00	3,0	5	2,0	10 5	1,2	1
1	0,8	2 50	0,5	2 50	0,5	3 50	do.	10,15	2,5	6	1,5	10 5	0,8	45
2	1,0	2 25	0,8	3 10	0,5	4 30	do.	9,45	3,5	4 30	1,8	12	0,9	40
2	1,0	2 25	0,9	3 5	0,3	4 35	do.	10,00	3,5	4 30	3,0	11 5	1,0	1 5
3	0,8	3	0,5	3 10	0,4	4 50	do.	10,00	3,2	5 10	3,2	8	1,5	1 5
3	0,8	3 30	0,5	3 5	0,5	4 35	do.	10,10	3,4	6 20	2,5	9 5	0,8	40

Diese Daten zeigen in ausgesprochener Weise die zeitweilige Wiederherstellung der Verdauungskraft und des Labungsvermögens unter dem Einflusse intravenös injizierten Speicheldrüsenextraktes. Jedoch war dieser Auszug nicht imstande, die in den verschiedenen früheren Versuchen zutage getretene normale Wirksamkeit des Magensaftes wiederherzustellen.

Tabelle E.

Wirkung der intravenösen Injektion von Speicheldrüsenextrakt auf die speicheldrüsenlosen Hunde der Serie B. Probemahlzeit aus 200 g Brot, 100 g Fleisch und 150 ccm Milch. Der Saft wurde durch Aushebern gewonnen. Exstirpation der Speicheldrüsen.

Prüfung des Saftes nach einer Verdauungszeit von 1—2 Stunden.

Vor Injektion des Speicheldrüsenextraktes: | Nach intravenöser Injektion von Speicheldrüsenextrakt:

Nr. des Hundes	Brotsaft		Fleischsaft		Milchsaft		Menge des in die Femuralis injizierten Speicheldrüsenextraktes	Zeit der Injektion des Extraktes	Brotsaft		Fleischsaft		Milchsaft	
	Verdauungsvermögen nach Mett mm	Koagulationszeit M. S.	Verdauungsvermögen nach Mett mm	Koagulationszeit M. S.	Verdauungsvermögen nach Mett mm	Kaogulationszeit M. S.		vormittags	Verdauungsvermögen nach Mett mm	Koagulationszeit M. S.	Verdauungsvermögen nach Mett mm	Koagulationszeit M. S.	Verdauungsvermögen nach Mett mm	Koagulationszeit M. S.
4	1	2 30	0,8	3 40	—	4 5	10 ccm in 10 ccm $^{n}/_{1}$-Salzlösung	11,10	2,5	10	2,2	15 5	1,5	45
5	0,8	2 30	0,5	2 55	0,2	4 10	do.	10,45	2	10 3	2,5	12 4	1,4	52
5	0,8	2 25	0,6	2 55	—	3 60	do.	10,45	2,4	12 5	2,0	12 2	0,9	52
8	1,5	3 10	0,9	3 10	0,1?	4 10	do.	11,00	3	15 5	1,5	20	1,8	56
9	1,0	3 20	0,9	3 20	—	4 20	do.	11,00	2,5	10 3	1,6	20 2	1,9	58
4	0,8	2 30	0,6	3 40		4 6	do.	11,00	2,4	10	2,3	15 2	1,5	1St.2M.

Sanatoriums-Betrachtung.

Von

J. H. van't Hoff.

Zu einer etwas längeren Arbeitsunterbrechung gezwungen, wollte ich dennoch mein gegebenes Wort, diesem Festbande etwas zu bringen, einlösen, und so entstand die kleine Überlegung, welche hier dargeboten wird und mehr den Charakter eines Lebenszeichens als einer Leistung beansprucht. Vielleicht ist es auch einem Jubilar angenehmer, unter den Beiträgen dann und wann Minderwertiges anzutreffen, als daß sich bei jeder weiteren Abhandlung das Gefühl eigener Kleinheit immer peinlicher ihm aufdrängt.

Es war eine Erfahrung in der Rekonvaleszenzperiode, über die wir uns in der Liegehalle des Sanatoriums von Kremser in Sülzhayn am Harz öfters aussprachen und die den medizinischen Kollegen wohl allgemein bekannt ist, welche mir ein altes physiologisches Problem wieder nahelegte. Während man sich nämlich unter normalen Verhältnissen beim Arbeiten, etwa Gehen und Bergsteigen, erhitzt, wie es ein jeder an sich beobachtet hat, trat bei den meisten von uns bei den ersten bescheidenen Geh- und Kletterversuchen nach langem Krankenlager Temperaturerniedrigung ein, die bis zu einem ganzen Grad Celsius betragen konnte, der aber dann bei Ruhe alsbald ein Ansteigen über die Anfangstemperatur folgte; das Thermometer ist dabei immer unter der Zunge angelegt worden.

Diese Beobachtung legte eine Frage nahe, welche auch schon von physiologischer Seite mehrfach Bearbeitung gefunden hat, wie es nämlich im arbeitenden Organismus zwischen Leistung und Erwärmung steht. Der Vergleich mit der Dampfmaschine ist dabei von jeher herangezogen, und dort läßt sich bekanntlich auch unter den günstigsten Verhältnissen von der durch Ver-

brennung erhaltenen Wärme nur ein Teil in Arbeit verwandeln, so daß auch die ideale Dampfmaschine sich bei der Arbeit erhitzt, wie es auch der normale Mensch zu tun scheint.

Die anfangs erwähnte Beobachtung von Abkühlung bei Arbeitsleistung legte nun den Vergleich mit anderen Arbeitsmaschinen als mit der Dampfmaschine nahe, und da kommen wohl die elektrischen Maschinen in erster Linie in Betracht, da die Muskelwirkung allem Anscheine nach auf elektrischem Antrieb beruht; und da diese (galvanische) Elektrizität im Organismus wohl durch chemische und physikalische Vorgänge ins Leben gerufen wird, erscheint ein Vergleich der körperlichen Arbeitsleistung mit derjenigen irgendeiner galvanischen Zelle geboten. Neu ist dieser Gedanke auch gerade nicht, aber in dem möglichen Nutzeffekt dieser Zellen hat sich doch der Einblick erst allmählich geklärt.

Eine rationelle Grundlage wurde dabei bekanntlich erst möglich nach Rektifikation der alten Auffassung, der sog. Thomsonschen Regel, daß die Wärme W, welche ein Vorgang entwickelt, sich in der elektrischen Arbeit E wiederfindet, welche diesen Vorgang in einer galvanischen Zelle leisten kann. Eine Beziehung zwischen beiden Größen besteht allerdings, jedoch sie ist nicht einfach $E = W$, sodern lautet:

$$E = W + T \frac{dE}{dT}$$

Daraus geht hervor, daß nur beim absoluten Nullpunkt ($T = o$) die alte Auffassung $E = W$, mit dem Nutzeffekt $\frac{E}{W} = 1$ oder $100\,^0/_0$, zutrifft, und daß nur unter diesen Umständen, falls die Arbeit eines Organismus mit einer Arbeitsmaschine vergleichbar ist, das Ideal, vollständige Umwandlung des Wärmevorrats in Arbeit, erreichbar ist.

Wiewohl nun diese beiden, lebendiger Organismus und absolute Nulltemperatur, einander ausschließen, läßt schon obige Gleichung durchblicken, daß auch bei anderen Temperaturen nicht nur dasselbe, sondern mehr erreichbar ist. Wenn nämlich $\frac{dE}{dT}$ positiv ausfällt (was im allgemeinen nicht zutrifft), so wird:

$E > W$, also der Nutzeffekt mehr als $100\,^0/_0$,

d. h. die Maschine liefert mehr Arbeit als dem Wärmewert entspricht, was für eine Dampfmaschine dem dort allerdings unmöglichen Vorgang entsprechen würde, daß mehr Arbeit erhalten wird als dem Verbrennungswert der Kohle entspricht, und die Dampfmaschine beim Arbeiten sich abkühlt; besonders ideale Verhältnisse also, die schon an die obige Beobachtung bei Rekonvaleszenten erinnert, und in galvanischen Elementen tatsächlich verwirklicht ist. Ein Element, in dem z. B. die Reaktion:

$$Cu + 2\,HgNO_3 = 2\,Hg + Cu\ (NO_3)_2$$

vor sich geht, entwickelt rund 21 Cal, (auf obige Mengen in Gramm), kann aber eine 30 Cal. entsprechende elektrische Arbeit leisten. Die Differenz führt dann entweder zur Abkühlung des Elementes, oder wird von außen, als Wärme aus der Umgebung, zugeführt.

Dem Ideal einer Arbeitsmaschine noch weiter entsprechend sind aber die Vorgänge, in denen obendrein $W = o$ ist; da dann der Nutzeffekt $\frac{E}{W} = \infty$ wird. Die ganze Energieleistung wird ihm sozusagen geschenkt, indem sie der Abkühlung entspricht oder von außen als Wärme aus der Umgebung zugeführt wird. Bekanntlich ist derartiges in den sog. Konzentrationsketten verwirklicht. Werden z. B. etwa zwei verschieden konzentrierte Zinkchloridlösungen durch ein Heberrohr miteinander verbunden und taucht in beide eine Zinkelektrode, so geht durch die verbindende Leitung ein galvanischer Strom, indem die Konzentrationsdifferenz sich ausgleicht: Zink wird aus der konzentrierten Lösung an der Zinkelektrode abgeschieden durch die positiven Ionen in Lösung, ladet diese Elektrode also positiv, während das Metall der andern Elektrode in Lösung geht; das Chlor wandert gleichzeitig als Ion durch das Heberrohr. Wärme entwickelt aber Konzentrationsausgleich bei genügender Verdünnung nicht, und die elektrische Arbeit, in diesem Fall $Tl\frac{c_1}{c_2}$ proportional (c_1 und c_2 der Konzentrationen), ist sozusagen Reingewinn.

Befremdend wäre es nun nicht, daß der Organismus diesen vorteilhaftesten Weg zur Arbeitsleistung geht, und für diesen Fall, läßt sich sehr leicht ausrechnen, um wieviel der mensch-

liche Körper bei bekannter Arbeitsleistung, beim Steigen z. B., an Temperatur einbüßt. Ist nämlich das Körpergewicht G kg, die Steigung H mr, so werden GH Kilogrammeter Arbeit geleistet und um

$$\frac{GH}{425} \text{ Calorien}$$

kühlt sich der Körper dementsprechend ab. Ist die spezifische Wärme des menschlichen Körpers auf rund eins, wie beim Wasser, zu veranschlagen, so würde eine Abkühlung um t^0 Celsius Gt Calorien entsprechen, und entsteht:

$$\frac{GH}{425} = Gt \quad \text{oder} \quad t = \frac{H}{425},$$

d. h. 425 m Steigen entspricht 1^0 Celsius Temperaturabnahme. Wiewohl nun der Zustand von Rekonvaleszenten, die kaum Treppen steigen dürfen, sich zu exakten Versuchen nicht eignet, so ergaben die von mir gemachten Beobachtungen doch Zahlen, die obige Beziehung durchaus nicht ausschließen, sondern vie l mehr in deren Rahmen passen.

Die Vorstellung über die Temperaturregulierung im menschlichen Körper, die ich mir hierbei machte, ist die, daß zwei Wärmevorgänge stattfinden: die eine die Arbeitsleistung begleitende, welche die Temperatur erniedrigt; eine zweite, welche diesen Wärmeverlust ausgleicht. Beim normalen Mensch gehen beide Hand in Hand, und die Temperaturkonstanz wird aufrecht erhalten. Bei gewissen Leiden dagegen, wo die Temperaturregulierung versagt, kommt der Ausgleich erst nach und nach zustande und es zeigt sich der die Arbeitsleistung begleitende Wärmeeffekt, im Grenzfall, ungeschmälert.

Le plasma oxalaté peut se coaguler sans addition d'un sel de calcium.

Von

P. Nolf.

(Institut de Physiologie, Liège.)

Depuis le travail d'Arthus[1]) sur l'importance des sels de chaux dans la coagulation du sang, on a beaucoup étudié le rôle du calcium dans ce phénomène.

Les belles recherches de Pekelharing[2]) et de Hammarsten[3]) ont précisé nos connaissances en cette matière, et actuellement les physiologistes admettent généralement que la présence du calcium est indispensable à la coagulation des milieux naturels (sang, lymphe, exsudats), tandis que la coagulation d'une solution de fibrinogène par une solution de thrombine est parfaitement possible sans le concours du calcium. Les milieux naturels ne contiennent pas de thrombine (A. Schmidt) avant leur coagulation. Après leur coagulation, le sérum qui exsude de leur caillot est riche en thrombine, même si le milieu est complètement dépourvu d'éléments figurés (Wooldridge). On a conclu de cet ensemble de faits que les milieux naturels contiennent de la prothrombine, et que la présence du calcium

---

[1]) Arthus, Recherches sur la coagulation du sang. Thèse de Paris 1890.

[2]) Pekelharing, Über die Bedeutung der Kalksalze für die Gerinnung des Blutes. Intern. Beiträge z. wiss. Med. 1891. — Untersuchungen über das Fibrinferment. Verhandl. der Koninkl. Akad. van Wetens. te Amsterdam 1892.

[3]) Hammarsten, Über die Bedeutung der löslichen Kalksalze für die Faserstoffgerinnung. Zeitschr. f. physiol. Chem. 22, 333 bis 395, 1896. Weitere Beiträge zur Kenntnis der Fibrinbildung. Ibidem 28, 98 bis 115, 1899.

est nécessaire à la transformation de la prothrombine en thrombine. Une fois cette transformation effectuée, le calcium devient inutile.

Des travaux récents de Fuld et Spiro[1]) et de Morawitz[2]) ont fortement ébranlé la notion classique de la prothrombine. D'après ces auteurs, la prothrombine de Pekelharing n'est pas une substance unique, mais un mélange de deux substances que Morawitz appelle thrombokinase et thrombogène. La thrombine dérive de l'action de l'une d'elles sur l'autre et cette transformation nécessite la présence des sels de chaux. Je suis arrivé moi-même à une opinion analogue à celle des trois auteurs précédents: Comme eux, j'admets que ce que l'on appelle prothrombine de Pekelharing n'est pas autre chose qu'un mélange de deux substances, dont l'une est identique à celle que Morawitz a appelée thrombogène et dont l'autre a été appelée par moi thrombozyme.[3]) La thrombozyme est présente dans le plasma normal à côté du thrombogène et du fibrinogène.

La coagulation de ce plasma est le résultat de l'union par addition de ces trois substances colloidales, qui sont les trois facteurs primordiaux de la coagulation. Pourquoi cette union ne se produit pas dans le sang circulant et pourquoi elle s'opère quand le plasma pur des mammifères se trouve au contact du verre ou d'autres parois qu'il mouille, c'est là une question délicate qu'il faut résoudre en s'inspirant des connaissances récemment acquises sur l'équilibre des colloïdes en solution. La fluidité du plasma correspond à un équilibre de solution très instable, qui est rompu au moment de la coagulation. Le rôle des sels de chaux est de faciliter, entre certaines limites de concentration, la rupture de l'équilibre. D'après Sabattani[4]), ce rôle n'est rempli par le calcium que si celui-ci

[1]) Fuld, Über die Vorbedingungen der Blutgerinnung, sowie über die Gerinnbarkeit des Fluorplasmas. Centralbl. f. Physiol. 18. 529 bis 533, 1903.

[2]) Morawitz, Beiträge zur Kenntnis der Blutgerinnung. Deutsch. Arch. f. klin. Med. 129, 10 bis 28, 1903.

[3]) Nolf, Contribution à l'étude de la coagulation du sang (4e Mémoire). Arch. intern. de Physiol. 4, 115 à 191, 1908.

[4]) Sabattani, Calcium und Trijodcitrat bei der Gerinnung des Blutes, der Lymphe und der Milch. Jahresber. f. Tierchem. 30, 143, 1900.

se trouve dissous à l'état ionique. La concentration optima du calcium-ion paraît correspondre à une concentration de 0.2 °/₀ à 0.5 °/₀ de chlorure calcique. Si l'on dépasse cette teneur, la coagulation devient plus difficile; elle se ralentit à mesure que la richesse en calcium augmente et elle devient impossible au delà de 2 °/₀ à 3 °/₀ de chlorure calcique (Horne[1]), Huiskamp[2]), Fleig et Lefébure[3])).

Au-dessous de la concentration de 0.5 °/₀, la coagulation d'un milieu naturel se ralentit aussi à mesure que le milieu s'appauvrit en calcium. D'après la théorie classique, elle devient impossible, quand la teneur en chaux est égale à celle qui peut exister dans un plasma auquel on a ajouté un fluorure (3 °/₀₀) ou un oxalate alcalin (1.5 °/₀₀). J'ai eu l'occasion de faire quelques observations qui enlèvent à cette loi son caractère absolu. La première exception concerne le plasma fluoré de chien. Ce plasma provient d'échantillons de sang recueillis par une canule de verre fixée dans une carotide chez un chien à jeun. Le sang est reçu dans des éprouvettes graduées qui contiennent la quantité nécessaire d'une solution à 3 °/₀ de fluorure sodique; le mélange du sang et de la solution est fait rapidement et mis immédiatement à centrifuger. Le plasma clair ainsi obtenu se trouble régulièrement quand on le met dans la glace. Cette précipitation n'atteint son maximum qu'après un temps assez long (un ou plusieurs jours). Le précipité formé de flocons visqueux est plus ou moins abondant. Après le temps nécessaire à sa complète formation, on trouve dans l'éprouvette qui contient le plasma, un disque fibrineux formé de flocons agglutinés, disque collé au fond de l'éprouvette, ou bien un voile assez peu homogène occupant tout le volume du plasma et se rétractant à l'agitation, ou bien un vrai caillot mou qui, à l'inclinaison de l'éprouvette, garde sa forme. Si, au lieu d'exposer les plasmas au froid de 0°, on les garde à

[1]) Horne, The action of calcium, strontium and baryum-salts in preventing coagulation of the blood. Journ. of Physiol. 19, 356 to 371, 1895.

[2]) Huiskamp, Über die Eiweißkörper der Thymusdrüse. Zeitschr. f. physiol. Chem. 32, 145 bis 196, 1901.

[3]) Fleig et Lefébure, De l'influence de l'hypercalcification sur la coagulation du sang. Journ. de Physiol. et Path. générale 4, 615 à 624, 1902.

la température ordinaire, les caillots ne se forment d'habitude pas ou, s'ils se forment, ils sont beaucoup moins abondants. Le plasma fluoré de chien recueilli correctement peut donc parfaitement se coaguler. A la vérité, la coagulation est très incomplète, mais elle est indubitable. Elle est favorisée par le refroidissement à 0^0. Certains de ces plasmas privés par filtration d'un premier caillot en fournissent un second après un nouveau séjour dans la glace. Si, au lieu d'employer du plasma fluoré, on prend du plasma oxalaté à $1.5^0/_{00}$ recueilli de la même manière, on n'observe plus de coagulation à 0^0. Après un temps plus ou moins long, ce liquide laisse également déposer quelques flocons, qui s'amassent au fond de l'éprouvette, mais ce précipité n'a pas un aspect aussi visqueux que le précédent et il est très peu abondant. En réalité, il est cependant constitué de fibrine mélangée à de la thrombozyme et à très peu de thrombogène.[1] Le plasma surnageant reste indéfiniment fluide tant à 0^0 qu'à la température ordinaire. Il suffit de lui ajouter un peu de chlorure calcique pour provoquer sa prise en caillot. Il possède donc tout ce qui est nécessaire à la coagulation, moins la chaux. En l'absence de celle-ci, les éléments constitutifs de la fibrine sont-ils nécessairement privés de tout contact entre eux et n'existe-t-il aucun moyen de les unir?

Quand on chauffe à 56^0 du plasma oxalaté à $1.5^0/_{00}$ de chien, on constate la formation d'un précipité floconneux dont on se débarrasse facilement par filtration. Ce précipité est habituellement considéré comme étant formé de fibrinogène coagulé. Et L. Fredericq[2] a proposé comme méthode de dosage du fibrinogène dans le plasma la pesée du précipité qui se forme à 56^0. Hammarsten pense au contraire que les précipités formés à 56^0 dans des liquides qui contiennent du fibrinogène sont de la fibrine. Il base cette opinion sur les observations très intéressantes qu'il a faites sur les solutions de fibrinogène préparées par sa méthode.[3]

---

[1]) P. Nolf, Contribution à l'étude de la coagulation du sang (4e mémoire). Arch. intern. de Physiol. 6, 115 à 191, 1908.

[2]) L. Fredericq, Recherches sur la coagulation du sang. Bull. Ac. roy. de Belgique 1877.

[3]) Hammarsten, Untersuchungen über die sog. Fibringeneratoren, den Faserstoff und die Gewinnung des Fibrinogens. Jahresber. f. Tierchem. 6, 15 bis 22, 1876.

Ces solutions étaient préalablement privées de leurs sels par dialyse dans de l'eau très légèrement alcalinisée. Chauffées rapidement à 100°, elles ne se troublaient pas, mais perdaient la propriété de se coaguler sous l'influence de la thrombine. Chauffées à 58—60°, elles se solidifiaient en une gelée transparente qui avait toutes les apparences d'un caillot normal et qui était d'habitude assez ferme pour que le tube qui la contenait pût être renversé. Cette solidification ne se produisait pas à des températures inférieures. Et il suffisait de maintenir la solution pendant un temps suffisant à 36—40° pour qu'elle ne se coagulât plus à 58°.

Il semble résulter de l'aspect du phénomène et des circonstances dans lesquelles il se produit, qu'il s'agit bien d'une transformation du fibrinogène en fibrine qu'Hammarsten a observée à 58—60°. Mais cette transformation est-elle uniquement attribuable à la chaleur? Je crois plutôt qu'elle est une coagulation au sens habituel du mot et qu'il faut, pour opérer à 58° la mutation du fibrinogène en fibrine, la coopération de la chaleur et de la thrombine ou plutôt de la thrombozyme et du thrombogène. Il est certain que le fibrinogène préparé par la méthode originelle de Hammarsten contient très souvent, si pas toujours, tous les éléments nécessaires à la coagulation. Ce fait a été démontré par A. Schmidt[1]), et d'autres auteurs, Morawitz[2]), moi-même, ont pu le confirmer. Quand les solutions contiennent peu de chlorure sodique, il n'est pas rare de les voir se coaguler spontanément après un temps plus ou moins long. Par suite de circonstances qui varient avec les échantillons, dont la principale est la très faible teneur en thrombozyme, la coagulation peut ne pas se produire à la température ordinaire ou à 37°. Mais elle s'effectue à 58°, comme le prouvent les observations de Hammarsten. Si cette interprétation est valable, il faudrait conclure que la température de 58° est plus favorable à la coagulation de certains milieux qui contiennent les trois facteurs primordiaux de la fibrine, que les températures inféreures, même que celle de 37°.

---

[1]) A. Schmidt, Weitere Beiträge zur Blutlehre S. 101.

[2]) Morawitz, Zur Kenntnis der Vorstufen des Fibrinferments. Beiträge z. chem. Physiol u. Pathol. 4, 381 bis 420, 1903.

Ces faits étant connus, il nous reste à apprécier la signification du précipité qui se produit à 56° dans le plasma oxalaté de chien. L'étude[1]) du liquide surnageant a montré que ce liquide ne contient plus qu'un seul des trois facteurs de la fibrine, le thrombogène, et encore en contient-il beaucoup moins que le plasma oxalaté non chauffé. Le chauffage à 56° a donc fait disparaître tout le fibrinogène, toute la thrombozyme et une bonne partie du thrombogène. Or, si l'on porte à la même température des solutions de thrombozyme privées de thrombogène et de fibrinogène ou des solutions de thrombogène libres de thrombozyme et de fibrinogène, on ne constate d'habitude pas d'altération sensible de ces substances. Pour que la température de 56° détruise la thrombozyme ou le thrombogène, il faut que ces deux substances soient mélangées dans le même milieu. Quand elles coexistent dans une même solution avec du fibrinogène, avec ou sans calcium, le chauffage à 56° les fait disparaître toutes deux en même temps que le fibrinogène, à moins quel'une des deux ne soit présente en fort excès. Dans ce dernier cas, l'excès seul é chappe à la destruction. Cela paraît indiquer qu'à cette température tout au moins, elles ne sont plus privées de tout contact entre elles même dans le plasma oxalaté. Dans ces conditions, j'ai cru devoir admettre que le précipité qui' se produit à 56 dans le plasma oxalaté de chien contient outre le fibrinogène, de la thrombozyme et du thrombogène et qu'il représente donc de la fibrine plutôt que du fibrinogène altéré.

Il restait à démontrer que cette fibrine est semblable à la fibrine naturelle, qu'elle se produit comme elle par l'union des trois facteurs primordiaux, que la coagulation à 56° est une coagulation normale. Le plasma oxalaté de chien ne se prête pas à ces essais. Le précipité qui apparaît à 56° est formé de gros flocons assez visqueux, qui n'ont que peu de tendance à s'agglutiner en un caillot. L'apparence du phénomème est tout différente de celle d'une coagulation normale.

Il n'en est plus de même quand on choisit comme réactif le plasma oxalaté de bœuf. Les liquides que j'ai employés

---

[1]) Nolf, Contribution à l'étude de la coagulation du sang (3e mémoire). Arch. intern. de Physiol. 6, 1 à 72, 1908.

étaient recueillis à l'abattoir. Le sang carotidien jaillissant avec force après la section des carotides était reçu dans des vases préalablement pourvus de la quantité nécessaire d'oxalate sodique. On avait soin de placer les vases assez loin de la plaie pour ne collecter que le sang qui jaillissait, à l'exclusion de celui qui s'écoulait à la surface de la plaie et qui pouvait être contaminé de suc des tissus. On mélangeait soigneusement le sang et la solution d'oxalate et l'on séparait par centrifugation le plasma des globules le plus tôt possible. Ces plasmas conservés à la température de 10° pendant plusieurs jours restèrent pour la plupart complètement fluides. Sur dix échantillons provenant de dix animaux différents, tous recueillis de la même façon, trois avaient abandonné, après 24 heures, un léger précipité floconneux, qui n'augmenta plus ultérieurement, les sept autres restèrent parfaitement limpides. Il en fut de même à 37°. Exposés pendant trois jours à cette température, les dix échantillons filtrés restèrent absolument fluides.

A 56°, les dix plasmas se coagulérent. Mais le caillot qu'ils fournirent était tout différent du précipité qui se produit dans le plasma de chien. Il formait une gelée semi-opaque, cohérente, qui gardait sa forme à l'inclinaison des tubes. Si la coagulation avait lieu dans des tubes à réaction étroits (10 à 12 mm de diamètre intérieur), le caillot était assez ferme pour que l'on pût, dans la très grande majorité des essais, retourner le tube sans qu'il s'écoulât une goutte de liquide. En un mot, la prise provoquée par la température de 56° avait toutes les apparences d'une coagulation normale. Le caillot obtenu dans ces conditions ne différait du caillot que les mêmes liquides fournirent après addition de la quantité nécessaire de chlorure calcique, que par une mollesse, une friabilité beaucoup plus grandes. Il suffisait d'agiter légèrement les caillots formés à 56° dans le milieu privé de chaux pour les désagréger et les réduire en flocons et membranes laissant exsuder de grandes quantités de liquide. Cette fermeté moindre du caillot privé de chaux est la conséquence de l'absence du calcium. On en sera convaincu après avoir examiné les caillots que donnent le sang normal ou le plasma normal auxquels on ajoute de petites quantités supplémentaires de chaux, sans dépasser la concentration de 0.5°/₀ de $CaCl_2$. Ces caillots ont une consistance

bien supérieure à ceux que fournissent le sang ou le plasma normaux; on peut les sortir des tubes, où ils se sont produits, les manipuler, les comprimer, les suspendre par un bout, sans qu'ils se rompent. Ils se laissent même étirer un peu à la façon de morceaux de caoutchouc. Bref, ils dépassent autant en cohésion le caillot normal que celui-ci dépasse lui-même le caillot privé de chaux. Cette influence du calcium sur la solidité du caillot est digne de remarque tant pour ce qui concerne la physiologie ou la pathologie du sang qu'à un point de vue plus général.

Il est donc établi que le plasma oxalaté du bœuf se prend régulièrement à 56° en un caillot qui à, part sa mollesse, a toutes res apparences d'un caillot normal, tandis que ce même plasma leste complétement fluide à 37°. C'est-à-dire que le plasma oxalaté de bœuf se comporte tout-à-fait comme les solutions de fibrinogène de Hammarsten. Il convient de donner la même interprétation aux deux phénomènes et de les attribuer tous deux à une transformation du fibrinogène en fibrine. On pourrait cependant objecter que cette façon de les comprendre n'est pas suffisamment basée par les observations précédentes. On pourrait dire que ce n'est pas parce que la chaleur à 56° fait éprouver au fibrinogène une modification analogue à celle qu'il subit quand il se coagule naturellement, que l'on peut conclure à l'identité chimique des deux coagulations; la seconde est une formation de fibrine, la première est une coagulation du fibrinogène par la chaleur.

Pour éprouver la valeur de cette objection, j'ai étudié l'action sur le plasma oxalaté de bœuf des températures intermédiaires à 37° et 56°. J'ai pu constater qu'il était inutile d'atteindre 56° pour provoquer la coagulation du liquide. A peine a-t-on dépassé 37° que le phénomène se produit déjà.

Dans le tableau suivant sont indiqués les temps nécessaires à la coagulation de trois échantillons à différentes températures. Les liquides étaient contenus dans des tubes assez étroits (diamètre intérieur 10—12 mm) et plongés dans un bain-marie à température constante, sauf ceux à la série 37° qui furent placés dans une étuve de Roux.

La température du bain-marie contrôlée d'heure en heure ne varia pas de plus d'un demi-degré pendant toute la durée

de l'observation pour les quatre dernières séries. Pour la série à 40°, l'observation dut être interrompue pendant la nuit, pendant laquelle les tubes furent maintenus dans le bain. On les trouva coagulés le lendemain matin. La durée du temps de coagulation est comprise entre 12 et 20 heures. La rigueur de cette observation n'est pas aussi grande que celle des autres, puis que, pendant la partie nocturne de l'observation, la température ne put être contrôlée. Il est cependant peu probable qu'elle ait dépassé 40°.

Des essais du même genre furent faits avec les sept autres échantillons et donnèrent des résultats analogues.

	37°	40°	42°	44°	49°	56°
Plasma I	Fluide après 3 jours.	Caillot après 20 heures (?)	Caillot après 10 heures.	Caillot après 3 heures.	Caillot après 5 minutes.	Caillot après 4 minutes.
Plasma II	Fluide après 3 jours.	Caillot après 20 heures (?)	Caillot après 10 heures.	Caillot après 2½ heures.	Caillot après 5 minutes.	Caillot après 3 minutes.
Plasma III	Fluide après 3 jours.	Fluide après 24 heures.	Caillot semi-fluide après 10 heures.	Caillot ferme après 10 heures (?)	Caillot après 9 minutes.	Caillot après 5 minutes.

La lecture du tableau montre deux choses:

1. que la coagulation a déjà lieu à 40°;

2. qu'elle se fait d'autant plus rapidement que la température s'élève davantage.

La première de ces constatations permettra d'écarter immédiatement l'objection précédente. Personne ne soutiendra que la fibrinogène puisse être altéré suffisamment par la température de 40° pour s'insolubiliser. Si le plasma oxalaté se solidifie, c'est donc bien, comme cela résulte déjà de l'aspect du caillot et de la disparition de la thrombozyme et du thrombogène, par suite d'une vraie formation de fibrine, identique dans son essence à celle du plasma normal.

La seconde constatation montre que la température optima pour cette formation de fibrine est non pas 37°, mais 56°. Cette constatation est en complet accord avec l'interprétation qui a été donnée de la coagulation des solutions de fibrinogène de Hammarsten. Certains liquides peuvent contenir les trois facteurs primordiaux de la fibrine sans se coaguler à 37°. Ils en sont empêchés par l'une ou l'autre cause. Quand on les chauffe à 56°, ils donnent le plus souvent un précipité qui est de la fibrine. Cette fibrine peut apparaître sous forme de

flocons, comme dans le plasma oxalaté de chien, ou sous forme de gelée, comme dans le plasma oxalaté de bœuf.

Dans le plasma oxalaté de cheval, elle prend un aspect intermédiaire entre les deux précédents, celui de voiles fibrineux assez étendus mais peu cohérents.

Si l'on considère la coagulation du plasma comme étant le résultat de l'union de trois colloïdes doués d'affinité l'un pour l'autre, on s'explique aisément ces faits. Dans le plasma circulant, ces trois colloïdes sont en présence, ils sont attirés l'un vèrs l'autre par cette affinité, par cette mutuelle tendance à se précipiter. Mais d'autres influences agissent en sens inverse, s'opposent à la précipitation, maintiennent les colloïdes en solution, à distance l'un de l'autre. Il en résulte un équilibre très instable, qui peut être rompu par des interventions très faibles. On peut dire d'une façon générale a *priori* que toute cause qui diminuera la solubilité du complexe fibrine ou de l'un de ses facteurs exercera une influence coagulante sur un plasma, qu'elle pourra, si elle est suffisamment intense, détruire l'équilibre, déclancher la coagulation. Examinons successivement à la lumière de ce principe général l'action des sels de chaux, celle du froid à 0^{0}, celle de la température de 56^{0}.

Des trois facteurs contenus dans le plasma, l'un, la thrombozyme, est produit par les leucocytes. On le trouve dans les extraits de ganglions lymphatiques, de rate, de thymus. Huiskamp[1]) à étudié plus spécialement l'action des extraits de thymus sur la coagulation du fibrinogène et il a constaté que la partie active de cet extrait était contenue dans la fraction nucléo-histone. En comparant ses résultats aux miens, je suis tout disposé à admettre que cette fraction comprend des colloïdes qui, s'ils ne sont pas tout-à-fait identiques à la thrombozyme du plasma, lui sont en tout cas apparentés et peuvent fonctionner comme thrombozyme dans les phénomènes de coagulation. Or les colloïdes compris dans la fraction nucléo-histone sont insolubles dans le chlorure calcique entre les concentrations $0{,}1\,^0/_0$ et $0{,}5\,^0/_0$. Chose remarquable, mise en évidence par Huiskamp, ce sont les mêmes concentrations qui constituent les

---

[1]) Huiskamp. Über die Eiweißkörper der Thymusdrüse. Zeitschr. f. physiol. Chem. 32, 145 bis 196, 1901.

limites entre lesquelles le chlorure calcique favorise le plus la coagulation du fibrinogène par la nuclés-histone ou celle du plasma. Il y a ici plus qu'une coïncidence. En appliquant le principe précédent, je crois poũvoir dire que les sels de chaux favorisent, entre certaines limites de concentration, la formation de la fibrine, tout simplement parce qu'ils diminuent fortement, entre ces mêmes limites, la solubilité d'un des constituants de la fibrine, la thrombozyme.

2. Le froid diminue beaucoup la solubilité de la même thrombozyme. On en a la preuve quand on analyse les précipités qui apparaissent à 0° dans certains plasmas, notamment dans le plasma de peptone (Wooldridge) ces précipités sont particulièrement riches en thrombozyme. Quand cette précipitation de thrombozyme s'opère dans un plasma, c'est-à-dire dans un liquide qui contient, outre la thrombozyme, du thrombogène et du fibrinogène, l'insolubilisation de la thrombozyme entraîne nécessairement une insolubilisation concomitante, plus ou moins considérable suivant les conditions du milieu, du thrombogène et du fibrinogène. Si cette insolubilisation propagée au thrombogène et au fibrinogène est suffisamment importante, il pourra apparaître des flocons de fibrine qui se souderont en voile ou en caillot. C'est ainsi qu'il se fait que certains milieux se coagulent à 0° et restent complètement fluides à 37°. Le plasma fluoré nous en a donné un exemple, Wooldridge en a cité un autre: certains plasmas de peptone additionnés de lécithine et saturés d'acide carbonique.

3. La température de 56° est une température critique pour un certain nombre de colloïdes du plasma sanguin. Plusieurs y perdent leurs propriétés fonctionnelles, d'autres, leur solubilité. Isolés, la thrombozyme et le thrombogène lui résistent l'une et l'autre. Mélangés l'une et l'autre à d'autres colloïdes du plasma et particulièrement au fibrinogène, ils ne la supportent plus, probablement parce que le fibrinogène ou plutôt les complexes dont fait partie le fibrinogène s'insolubilisent à cette température.

On conçoit donc que dans certains milieux la tendance à la formation de la fibrine pourra devenir de plus en plus grande à mesure que la température approche de 56°. Ici encore nous trouvons une application du principe général: Est coagulante toute cause qui diminue la solubilité du complexe fibrine ou

de l'un de ses facteurs. Seulement, au lieu de porter son action sur la thrombozyme, comme le froid ou les sels de chaux, la chaleur agit plutôt par l'intermédiaire du fibrinogène. Nous voyons ainsi s'explique par des raisons simples des faits qui paraissent très disparates et entre lesquels la théorie classique ne montre aucune analogie, au contraire. Ces faits sont d'ailleurs en complète contradiction avec la théorie classique, puisqu'ils démontrent:

1. que le calcium n'est pas indispensable à la coagulation du plasma oxalaté.

2. que la température la plus favorable à la coagulation du plasma oxalaté, la température de 56°, est précisément celle qui détruit la thrombine du plasma.

Sur le relèvement matinal de la courbe diurne de l'excrétion urinaire de l'azote.

Par

Léon Fredericq, Liége.

Mit 1 Figur im Text.

Dans un petit travail publié en 1890[1]), j'ai montré que le dosage de l'urée des urines humaines par l'hypobromite de sodium, donne, quand il est exécuté avec soin, des résultats comparables entre eux, et suffisamment exacts pour pouvoir être utilisés dans des travaux de physiologie pure, tout au moins pour des recherches de première orientation.

On recueille, par exemple, chez l'homme par l'uréomètre représenté Fig. 1: on peut en heure, à partir du lever; on y dose l'azote à jeun depuis la veille au soir, l'urine d'heure étudier ainsi l'influence de différents agents sur l'excrétion de l'azote.

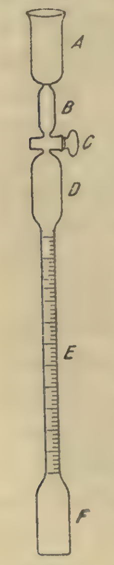


Fig. 1.
Uréomètre de l'auteur.

On plonge l'appareil sur la cuve à mercure jusqu'au robinet C que l'on ferme. On mesure très exactement 2·5 c. c. d'urine en B. On entrouvre le robinet C de manière à faire passer cette urine de B en D. On remplit ensuite B au moyen d'une solution de soude et A au moyen d'hypobromite. Puis on fait vivement pénétrer la soude et l'hypobromite dans D, en ouvrant largement le robinet C, après avoir au préalable soulevé presque complètement (jusqu'en F) l'appareil hors du mercure. On referme C un peu avant que les dernières portions d'hypobromite aient pénétré en D.

On transporte l'uréomètre sur une cuve à eau pour faire la lecture du volume d'azote (à la pression atmosphérique). Pour plus de détails voir le Livre jubilaire de la Société de Biologie, Paris 1900.

---

[1]) Un nouvel uréomètre. Livre jubilaire de la Société de Biologie. Paris 1900, 52—54.

Je m'étais borné, dans le travail cité, à publier à titre d'exemple, les chiffres de deux expériences sur l'influence de l'exercice musculaire. J'avais constaté une diminution transitoire de l'excrétion de l'azote, sous l'influence d'un travail musculaire énergique (monter et descendre une douzaine de fois de suite un escalier de 15 m de haut).

Mais on peut tirer de mes expériences d'autres conclusions intéressantes. Comme on devait s'y attendre, chez le sujet à jeun, l'azote urinaire, mesuré d'heure en heure, présente une diminution graduelle assez régulière, à partir du dernier repas pris la veille au soir. Le matin la quantité horaire d'azote excrété est toujours en décroissance sur la moyenne de la nuit. Or je constate dans mes séries de chiffres d'expérience que cette décroissance graduelle de l'excrétion d'azote est interrompue vers 9 heures du matin par une augmentation temporaire qui vient pendant une ou deux heures relever la courbe. Cette courbe reprend ensuite sa marche descendante. Cette particularité se remarque déjà dans les valeurs d'azote données pour les deux expériences du travail cité, expériences qui se rapportent à un autre objet.

En voici trois autres exemples:

Expérience du 30 janvier 1898. Sujet à jeun depuis la veille[1])

de 7 à 8 h. du matin	364.8	c. c. azote	(en décroissance sur la moyenne de la nuit)
8 9	380		
9 10	399		
10 11	391		(entre 10 et 11 h. léger travail musculaire)
11 12	264		

1er février 1898. Id. Souper copieux la veille à $7^1/_2$ h. du soir.

de 7 à 8 h. du matin	492.8	c. c. azote	
8 9	523.9		
9 10	477.1		
10 11	436.8		Les chiffres d'azote
11 12	377.52		n'ont pas été réduits

2 février 1898. Id. à 0^0 et 760^{mm} P.

[1]) Sujet âgé de 46 ans, mesurant 1^m76 et pesant à jeun (habillé) 81 kilog.

de 6 à 7 h. du matin		490.8
7	8	409
8	9	468.6
9	10	413.9
10	11	373.3

A quoi attribuer cette augmentation passagère de l'excrétion d'azote? Je ne puis la rapporter au passage de l'état de sommeil à celui de veille, ni au travail musculaire inséparable de l'état de veille. Et d'abord l'augmentation dont il est question ne se montre pas immédiatement après le lever, mais deux ou trois heures après. Quant à l'exercice musculaire, il a pour effet, au moins chez moi, de diminuer la quantité de l'azote urinaire et non de l'élever.

On remarquera que cette augmentation temporaire d'azote se montre environ une heure après l'heure habituelle du premier déjeuner (pris entre $7^1/_2$ et 8 heures et composé de pain, beurre, café au lait sucré), c. à. d. à l'heure où les jours précédents, sous l'influence de ce repas, s'était produite l'augmentation temporaire d'azote urinaire qui suit toute ingestion d'albuminoïdes. N'y aurait-il pas là l'explication de ce relèvement de la courbe d'azote?

L'organisme, par un long effet de l'habitude, continuerait à offrir un relèvement temporaire de la courbe de l'excrétion d'azote, vers 9 heures du matin, alors que la cause ordinaire de ce relèvement, le déjeuner du matin, a été momentanément supprimée.

Je ne me dissimule pas tout ce que cette explication a d'hypothétique. Il faudrait la soumettre à une critique expérimentale plus sévère: multiplier le nombre des expériences, les étendre aux autres repas, varier l'heure du lever dans des limites plus larges, Il y aurait lieu surtout d'examiner, si, en supprimant pendant une longue période de semaines ou de mois, le repas du matin, on arriverait à faire disparaître le relèvement matinal de la courbe d'azote excrété.

Je n'ai jusqu'à présent pu réaliser mon désir d'exécuter ce programme d'expériences. Un autre en aura peut-être le loisir.

Je ferai remarquer en terminant que nous possédons d'autres exemples de phénomènes physiologiques périodiques,

qui primitivement ont pris naissance sous l'influence de causes occasionnelles extérieures, et qui ensuite persistent pendant un certain temps par un effet de l'habitude, alors que la cause directe est supprimée momentanément.

La courbe diurne des variations de la température interne de l'homme, qui répond aux alternances des conditions physiques de la vie pendant les heures de jour et celles de nuit, se maintient (plus ou moins atténuée, il est vrai), chez les individus que l'on soustrait temporairement aux influences directes du jour et de la nuit. Le rythme thermique diurne se trouve conservé, malgré la suppression de sa cause immédiate

De même, Georges Bohn a montré récemment que certains animaux littoraux marins exécutent à chaque marée des déplacements en hauteur comme réponse aux variations de niveau de la mer. Or ces animaux continuent à présenter des oscillations locomotrices analogues, alors qu'on les conserve dans des aquariums soustraits à l'action directe des marées. Rien ne peut ici avertir les animaux de l'heure du flot et du jusant, qui varient d'ailleurs chaque jour.

Essais de biologie synthètique.

Par

Dr. Stéphane Leduc,
Professeur à l'Ecole de Médecine de Nantes.

Mit 1 Tafel.

Toutes les sciences naturelles suivent une évolution analogue, elles débutent par l'observation et la classification des objets et des phénomènes, puis elles décomposent ceux-ci pour déterminer le mécanisme physique de leur production, elles deviennent alors analytiques; lorsque le mécanisme d'un phénomène est connu, il devient possible, en dirigeant les forces physiques, de reproduire ce phénomène, la science est devenue synthétique.

La biologie moderne admet que les phénomènes de la vie sont d'ordre physico-chimique. Si nous ne sommes pas arrivés à préciser la nature et l'action de toutes les forces physico-chimiques intervenant dans tous les phénomènes de la vie; toutes les fois que l'on a découvert la nature et le mode d'action d'une force, c'était une force physique agissant suivant les lois qui régissent la matière non vivante. Les résultats des recherches faites jus qù' à présent doivent donc conduire à admettre que la vie est produite par les mêmes forces, et soumise aux mêmes lois, qui régissent le monde non vivant.

La biologie doit évoluer comme les autres sciences naturelles et être successivement descriptive, analytique, et synthétique.

Beaucoup, même parmi les savants, conçoivent la biologie synthétique comme la fabrication d'êtres vivants, analogues aux êtres vivants actuels, en ayant tous les attributs, toutes les qualités. Cette conception est enfantine, contraire à la pensée scientifique qui nous révèle que toute œuvre est progressive, évolutive, et que le temps est un facteur indispensable à tout phénomène; elle est contraire aux révélations des sciences

naturelles qui nous présentent les êtres vivants actuels comme le résultat de transformations lentes et successives, poursuivies dans des conditions constamment variées, pendant des temps d'une durée presque incommensurable. On doit d'ailleurs admettre, que les êtres vivants les plus anciens dont nous ayons recueilli les restes, êtres déjà compliqués, étaient eux mêmes le résultat d'une longue évolution d'êtres antérieurs, plus simples, plus éphémères, entièrement disparus sans laisser aucune trace.

La biologie ne peut échapper aux lois qui régissent toutes les sciences, et dans ses premiers essais de synthèse, accomplir d'emblée, dans toute sa complication, l'œuvre à laquelle la nature a consacré une longue suite de siècles. La biologie ne peut entrer dans la voie de la synthèse que progressivement, pas à pas; elle doit s'appliquer à reproduire séparément les phénomènes élémentaires de la vie, puis chercher à les réunir, à les associer, à en observer l'évolution sous des influences diverses. Entreprendre cette étude est utile aux sciences en général, à la biologie en particulier.

Il existe déjà de nombreures tentatives de synthése biologique, de reproduction des formes et des fonctions des êtres vivants; il ne saurait entrer dans le cadre de cet article d'en faire l'historique, que le lecteur trouvera dans l'excellent ouvrage de M. le prof. Moriz Benedikt: Krystallisation und Morphogenesis; dans la brochure sur la création de l'être vivant de M. le prof. Raphaël Dubois de Lyon: et enfin dans l'ouvrage de M. L Rhumbler: Aus dem Lückengebiet zwischen organischer und anorganischer Materie, lequel contient une bibliographie éntendue du sujet.

En biologie générale on compare les cristaux aux êtres vivants, parceque les cristaux ont une forme spécifique, qu'ils s'accroissent au dépend du milieu, eaux mères, dans lequel ils se trouvent, et cicatrisent leurs blessures. Il existe une catégorie de productions physiques présentant avec les êtres vivants des analogies de forme, de structure, de fonction, bien plus nombreuses, bien plus étroites que celles présentées par les cristaux; ce sont les croissances osmotiques. Désignées en Allemagne sous le nom de Metallsalzvegetationen, ces productions ont été étudiées par M. le prof. Quinke, dans son mémoire paru en 1902 dans les Annalen der Physik, sous le titre: Über

unsichtbare Flüssigkeitsschichten etc. Ces végétations de sels métalliques ont dû se présenter aux chimistes depuis l'origine même de la chimie; mais apercevoir un phénomène et le comprendre sont deux choses très différentes; bien des hommes ont vu le spectre lumineux, ne serait ce que celui de l'arc en ciel, avant Newton; bien des hommes ont vu l'éclair avant Franklin. M. le prof. Quinke attribue à R. Böttger, en 1865, la première mention des metallvegetationen. En 1866, Moriz Traube découvrit les propriètés osmotiques des membranes précipitées, il étudia surtout le mode d'extension de ces membranes, et insista sur les analogies de leurs propriétés avec celles des membranes des cellules vivantes. Les différents mémoires de Moriz Traube sont facilement accessibles au lecteur puisqu'ils ont été réunis par ses fils en un volume: Gesammelte Abhandlungen von Moriz Traube.

Le phénomène de la croissance osmotique est très général, il se produit avec les substances les plus répandues dans la nature, avec celles qui forment la plus grande partie de l'écorce terrestre. Il suffit de projeter des fragments d'un sel soluble de calcium, chlorure ou nitrate, dans une solution saturée de carbonate de sodium, pour voir se développer de luxuriantes croissances osmotiques; les membranes osmotiques sont alors formées de carbonate de calcium. Les sels de cuivre dans les solutions de ferrocyanure de potassium et inversement; presque tous les sels métalliques solubles, dans les solutions des silicates alcalins, donnent lieu au phénomène de la croissance osmotique. M. le prof. Quinke parle, dans son mémoire, à la page 659, de Metallsalzvegetationen de plusieurs centimètres de haut; mais, dans des conditions convenables, il est possible d'obtenir d'un fragment de quelques millimètres de diamètre, de nombreuses tiges de croissances osmotiques dépassant 40 centimètres de hauteur. Des graines de 2 à 3 millimètres de diamètre, pesant deux à trois centigrammes, faites d'un tiers de sucre et de deux tiers de sulfate de cuivre, semées dans un liquide à 40°, composé de 100 parties d'eau, 10 à 20 parties d'une solution à 10 p 100 de gélatine, 5 à 10 parties d'une solution saturée de ferrocyanure de potassium, 5 à 10 parties d'une solution saturée de chlorure de sodium, donnent de nombreuses tiges ramifiées pouvant dépasser 40 centimètres

de hauteur. Dans un mélange à divers degrès de dilution de deux parties de silicate alcalin à 33°, deux parties d'une solution saturée de carbonate de sodium, une partie d'une solution saturée de phosphate de potassium ou de sodium, presque tous les sels solubles, et en particulier les sels solubles de calcium, donnent des croissances osmotiques pouvant dépasser 40 centimètres de hauteur. M. le prof. Quinke termine son mémoire en disant: „Je conteste l'existence de membranes semi-perméables, et ainsi tombe la notion de pression osmotique, fondée sur l'admission de l'existence de pareilles membranes."

Malgré notre très haute considération pour M. le prof. Quinke et pour ses travaux, nous considérons comme produits par la pression osmotique, les phénomènes de croissance observés dans les conditions décrites: le chlorure de calcium, projeté dans une solution de carbonate de sodium, s'entoure d'une membrane de carbonate de calcium, perméable à l'eau, celle-ci pénètre à l'intérieur, tandis que la solution de chlorure de calcium concentrée, par son énorme pression osmotique, distend la membrane enveloppante, comme un gaz distend un ballon, et augmente ainsi l'appel d'eau à l'intérieur; en un point de la surface se produit un bourgeon, qui devient le siège des mêmes phénomènes, et la croissance continue à s'effectuer de la sorte.

Les formes produites par la croissance osmotique se rapprochent, plus qu'aucune autres, de celles des végétaux; elles présentent des tiges ramifiées arborescentes, ayant souvent à leurs bases des prolongements horizontaux en forme de rhizomes, et à leurs sommets des organes terminaux affectant les formes des différentes graines et des différents fruits. On peut d'ailleurs, dans la croissance osmotique, diriger la morphogénie, la production des formes, en agissant sur la pression osmotique. C'est ainsi que les organes terminaux s'obtiennent en diluant la solution dans laquelle s'effectue la croissance, c'est à dire en diminuant la pression osmotique; on obtient ainsi de grosses sphères terminales, comme des pommes ou comme des oranges, ainsi que le montre la photographie de la croissance osmotique calcaire fig. 1. Si, après avoir diminué la pression osmotique, on l'augmente, la croissance recommence en hauteur, et l'on obtient des organes terminaux piriformes, en forme de poires, ou de carottes.

La croissance osmotique se fait avec une absorption considérable de substance dans le milieu ou elle se développe; il est facile de siphoner le liquide dans lequel s'effectuent les croissances calcaires qui ont assez de solidité pour se conserver intactes, on constate alors qu'elles ont plusieurs centaines de fois le poids de la substance initiale qui leur a donné naissance.

La molécule de la substance absorbée est modifiée avant d'être assimilée à la croissance osmotique; par exemple: le squelette formée de molécules de carbonate de calcium, d'une croissance osmotique développée dans un liquide nutritif qui ne contient que des molécules de carbonate de sodium et d'eau; la molécule de carbonate de sodium est décomposée, et l'ion carbonique est incorporé à la molécule de carbonate de calcium pour être assimilée à la croissance osmotique.

Les croissances osmotiques éliminent dans leurs milieux de développement, milieux ambiants, une partie de leur substance, en particulier des anions; par exemple: en incorporant à une graine, formée d'un sel soluble de calcium, du chromate de calcium le liquide de développement se colore en jaune par l'élimination du radical chromique.

La croissance osmotique développe une organisation structurale formée de cellules microscopiques. Toutes les formes structurales des croissances osmotiques dérivent de la forme cellulaire, comme le démontrent les microphotographies Fig. 2; la tige A est purement cellulaire; la tige B est cloisonnée, elle est formée par la superposition et l'aplatissement des cellules microscopiques; la tige C est vasculaire et formée par l'allongement des cellules, et la disparition des cloisons intermédiaires; la photographie montre la persistance d'une cloison. Ces différences de structures correspondent aux différences des conditions physiques et chimiques dans le développement des croissances osmotiques.

Tout d'abord les cellules ne sont que des vésicules, formées d'une membrane d'enveloppe renfermant un liquide, puis on y voit apparaître une ou plusieurs granulations comme celles de la tige G; chaque cellule est alors formée d'une membrane d'enveloppe, d'un contenu liquide ou semi-liquide et d'un ou plusieurs noyaux.

Les noyaux se forment avec le temps sous l'influence de

mouvements très lents de diffusion; l'étude que nous avons faite de leur formation nous a conduit à les considérer comme le résultat de l'influence combinée de mouvements très lents de diffusion et de la cohésion; les courants de diffusion transportent les particules en suspension dans leurs sphères d'attraction réciproques où elles se trouvent animeés par des forces vives inférieures à l'attraction de leurs masses; dans ces condition, elles s'aglomèrent en masses ayant un pouvoir plus puissant d'attraction, et qui continuent, par le même mécanisme, à grossir pour former les noyaux.

Les phénomènes qui, dans les liquides, résultent des différences de concentration, peuvent se représenter comme Faraday a représenté les phénomènes magnétiques ou électriques, par des centres de force ou pôles, et par des champs de force. Dans un liquide quelconque, tout point de concentration plus forte que celle du milieu, tout point hypertonique, est un centre de force, un pôle positif de diffusion, tout point hypotonique est un pôle négatif de diffusion. En faisant diffuser une goutte de sang dilué dans une solution hypertonique, les globules s'orientent suivant les lignes de force, on a la représentation d'un champ monopolaire de diffusion; si deux gouttes semblables diffusent à côté l'une de l'autre, leurs lignes de force se repoussent; si l'on fait diffuser, dans une même solution, une goutte plus concentrée et une goutte moins concentrée que cette solution, les lignes de force unissent les centres des deux gouttes; on a des champs semblables aux champs magnétiques entre pôles de mêmes noms et pôles de noms contraires.

Hermann Foll lui-même a fait remarquer la ressemblance des figures découvertes par lui dans les cellules en voie de division, avec les spectres ou fantômes magnétiques; et un grand nombre d'auteurs ont cherché à expliquer la karyokinèse par des forces polaires agissant suivant les lois qui régissent les forces magnétiques ou électriques.

La connaissance des pôles et des champs de force de diffusion permet de reproduire, avec des liquides analogues à ceux qui constituent les êtres vivants, et dans leur ordre consécutif et régulier, les forces, les mouvements et les figures compliquées de la karyokinèse. Avec des gouttes de sang dilué

par des solutions plus ou moins concentrées de chlorure de sodium, on peut, dans de l'eau salée, reproduire des figures semblables à la figure achromatique; on peut reproduire, dans leur ordre régulier, les aspects successifs et compliqués qui s'observent dans la division du noyau; on peut enfin reproduire toutes les figures des karyokinèses anormales. La fig. 3 donne les photographies de quatre aspects consécutifs, de quatre périodes, de cette karyokinèse d'un noyau artificiel, formé par une goutte de sang placée dans de l'eau salée plus concentrée, entre deux autres gouttes de sang plus concentrée en chlorure de sodium que l'eau salée jouant le rôle de plasma; les deux gouttes latérales font fonction de centrosomes; on voit alors se dérouler sous les yeux tous les mouvements, toutes les opérations de la karyokinèse. La fig. 3 donne les photographies de quatre des aspects de cette évolution; *A* correspond à la formation du peloton chromatique ou spirème; *B* à l'orientation des chromosomes dans le plan équatorial; *G* à la marche des chromosomes vers les centrosomes; et *D* montre les deux cellules finales. Il est évident que pendant l'expérience on observe tous les aspects intermédiaires.

Si ces expériences ne prouvent pas que se sont la pression osmotique et la diffusion qui produisent la karyokinèse naturelle, elles prouvent au moins qu'elles peuvent la produire.

En admettant que la karyokinèse naturelle soit, comme notre karyokinèse artificielle, produite par les actions polaires de la pression osmotique; les pôles pourraient, ou être introduit du dehors par la fécondation, ou naître sur place. Dans tout centre d'anabolisme, le nombre des molécules et la pression osmotique diminuent, et l'on a un pôle négatif de diffusion; dans tout centre de catabolisme, le nombre des molécules et la pression osmotique augmentent, et l'on a un pôle positif de diffusion.

Si les pôles de diffusion jouent, dans la cellule vivante, le rôle qu'indiquent nos expériences, la conservation de la cellule se trouve liée à la symétrie du métabolisme autour d'un centre, car, dès que dans le cytoplasma apparaissent plusieurs centres de métabolisme, le noyau doit se diviser, en suivant l'évolution de la karyokinèse.



Fig. 1. Croissance osmotique calcaire.

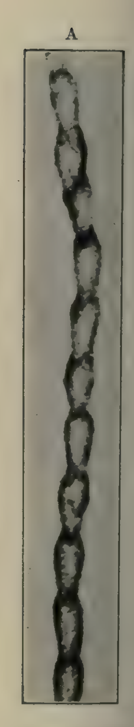
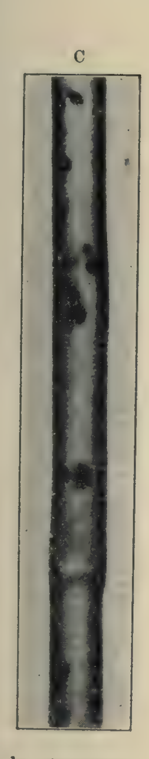


Fig. 2. Micropho
des c

A tige cellulaire; B t
et l'applatissement
par l'alongement de
dont une encore subsi
Agra

Tafel I.

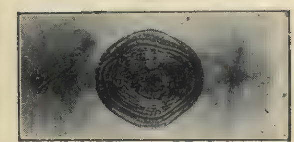
C



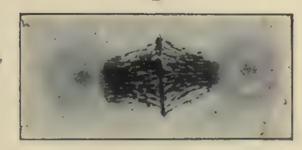
ontrant la structure
iotiques.

mé par la juxtaposition
tige vasculaire formée
disparition des cloisons
phie montre les noyaux.
amètres.

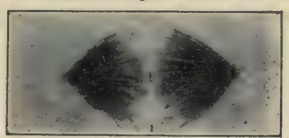
A



B



C



D



Fig. 3. Karyokinese d'un noyau artificiel.

A Correspond au spirème ; B correspond à l'orientation des chromosomes dans le plan équatorial ; C correspond à la marche des chromosomes vers les centrosomes ; D terme de la division montrant les deux cellules filles.

On the Biochemical Relationship between the „Staircase“ phenomenon and fatigue.

By

T. Brailsford Robertson.

(From the Rudolph Spreckels Physiological Laboratory of the University of California).

I. Introduction.

I. The general Characteristics of Autocatalysed Chemical Reactions.

There are a number of chemical reactions which are markedly accelerated by one o more of the substances which enter into the reaction, this acceleration being due to the fact that the substance or substances in question act as catalysors of the reaction; such reactions are termed, by Ostwald[1]), instances of Autocatalysis.

If we consider the velocity of the reaction in such a sense that one of the products of the reaction is the catalyst, then the characteristic differential equation for a monomolecular reaction of this type is:

$$\frac{dx}{dt} = kx(A - x)$$

which expresses in mathematical symbols the fact that the velocity of the transformation is, at any instant, proportional to the amount of the material which is undergoing change and to the amount of the material which has already been transformed. The velocity of the reaction, were it not catalysed by one of the products, would, according to Guldberg and Waages's mass-law, be simply proportional to the active mass of unaltered substance. The reaction being autocatalysed,

[1]) Ostwald, Ber. über d. Verhandl. d. kgl. Sächs. Ges. d. Wiss.. 1890, 189.

howewer, the velocity constant is, as usual in catalytic reactions, multiplied by the active mass of the catalyst, that is, in this instance, by the active mass of that product of the reaction which acts as the catalysor.

Provided the reaction is monomolecular in both directions, that is, is of the type $A_1 \rightleftarrows A_2$, or if all the products of the reaction, save the one which acts as the catalyst, are removed as rapidly as they are formed so that their active mass may be regarded as constant, then the same equation will continue to represent the relation between the velocity of the reaction and the mass of the product even when the velocity of the reverse reaction, due to the accumulated mass of the product, is of dimensions comparable with that of the forward reaction, only in this case the constants have a somewhat different meaning.[1])

The integral form of the above differential equation is:

$$\log \frac{x}{A - x} = K (t - t_1)$$

where A and K are constants and t_1 is the time at which x, the mass of the product, is equal to $^1/_2 A$.[2])

A well-known instance of autocatalysis of this type is the inversion of an aqueous solution of sugar at 100°. The invert-sugar which is produced during the reaction decomposes, giving rise to an acid of unknown composition which accelerates the inversion; the rate of formation of this acid being proportional to the amount of invert-sugar present. Kullgren has shown that the above equation accurately represents the progress of the reaction.[3])

A similar instance is afforded by the hydrolysis of Methyl Acetate. As is well-known the velocity of hydrolysis is greatly accelerated by acids, nor is the acetic acid which is produced by the reaction inactive in this respect. Under ordinary laboratory conditions, when strong acids are used to accelerate the hydrolysis, the influence of the much weaker acetic acid is ne-

---

[1]) T. Brailsford Robertson, Arch. f. Entwicklungsmechanik.

[2]) Kullgren, Zeitschr. f. physikal. Chem. **41**, 407, 1902. — T. Brailsford Robertson, l. c.

[3]) Kullgren, l. c.

gligeable in comparison; but when acetic acid itself is used as the catalysing acid then the acetic acid liberated during the reaction considerably modifies its time-relations. Ostwald has investigated this reaction and, using an equation similar to that deduced above, found a highly satisfactory agreement between theory and experiment.[1])

Victor Henri has pointed out that the velocity of the inversion of Cane Sugar by invertase does not fall off with the progress of the reaction in the proportion that it would were the reaction an instance of simple catalysis, but, assuming that one of thc products of the reaction, the laevulose, also accelerates the inversion and introducing this factor in the manner outlined above he obtained an equation which accurately represented the experimental data.[2])

Instances of autocatalytic oxidations are afforded by the spontaneous oxidation of many metals and organic compounds in the presence of oxygen at atmospheric temperature; it has long been observed that in the spontaneous oxidation of these substances they acquire the power of inducing oxidation in others substances which are not spontaneously oxidisable, and it has been shown that this action is due to the formation of peroxides which catalyse oxidations, including the oxidation of the spontaneously oxidisable material itself.[3])

Other instances of autocatalysis in which one of the

---

[1]) W. Ostwald, Journ. f. prakt. Chem. (2) **28**, 449, 1883.

[2]) V. Henri, Zeitschr. f. phsikal. Chem. **39**, 194, 1902.

[3]) Schönbein, Verhdl. Bas. naturw. Ges. N. F. **1**, 467; **2**, 113; Journ. f. prakt. Chem. **93**, 25, 1864. — Cf. also Letters of J. J. Berzelius and C. J. Schönbein 1836 bis 1847, edited by W. A. Kahlbaum und Franzl: by J. U. Darbishire and N. V. Sidgwick, London 1900. — Brodie, Phil. Trans. Roy. Soc. London **1850**, 759. Jahresber. f. Chem. **1850**, 248. — Clausius, Pogg. Annalen **103**, 644, 1858; **121**, 256, 1864. — Loew, Zeitschr. f. Chem. N. F. **6**, 610. — Hoppe-Seyler, Zeischr. f. physikal. Chem. **2**, 24, 1888; Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **12**, 1551, 1879. — Baumann, Zeitschr. f. physikal. Chem. **5**, 244, 1890. — M. Traube, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **15**, 644, 1888. — van't Hoff, Zeitschr. f. physikal. Chem. **16**, 411, 1895. — Jorissen, ibid. **22**, 34. 1897; Engler und Wild, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **30**, 1669, 1897. — Engler, ibid. **33**, 1109, 1900.

products of the reaction is the catalysing agent have been studied by the undermentioned investigators.[1])

The transformation of oxyvalerianic acid into the corresponding lactone affords an example of an autocatalytic reaction in which the catalysing agent is used up during the progress of the reaction,[2]) instead of, as in the instances considered above, increasing in amount as the reaction progresses. Of course any of the above reactions, taking place in the reverse direction, would also be of this type, as, for example, the synthesis of methyl acetate from methyl alcohol and acetic acid. The acceleration of the hydrolysis of Salicin by Emulsin would also appear to afford an instance of this type of reaction.[3])

As regards the occurrence of autocatalysed reactions among the chemical processes accompanying life-phenomena, it has been pointed out by Loeb[4]) that the synthesis of nuclein, which is the main chemical change following and accompanying the process of cell-division, is an autocatalytic reaction in which one of the products of the reaction, the nucleus or one of its constituents, also accelerates the reaction. I have pointed out that the process of cell-growth is also, in all probability, dependent upon a reaction of this type and that its progress can be very accurately represented by formulas similar to that given above:[5]) From the preceding considerations it is evident that, qualitatively speaking, the main characteristic of autocatalysed chemical reactions in which one of the products

---

[1]) W. Hentschel, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **23**, 2394, 1890. — W. Müller, Zeitschr, f. physikal. Chem. **41**, 483, 1902. — P. Henry. Zeitschr. f. physikal. Chem. **10**, 96, 1892. Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **24**, 1236, 1891. — U. Collan, ibid. **10**, 130, 1892.

[2]) P. Henry, l. c.

[3]) A. A. Noyes und Hall, Zeitschr. f. physikal. Chem. **18**, 240, 1895. — G. Tammann, Zeitschr. f. physiol. Chem. **16**, 285, 1892; **18**, 428, 1895.

[4]) J. Loeb, Diese Zeitschr. **2**, 34, 1906. — Address delivered at the seventh International Zoological Congress Boston Aug. 22, 1907. — Univ. of California Publ. Physiol. **3**, 61, 1907. — Vorträge und Aufsätze über Entwicklungsmechanik. Heft 2: „Über den chemischen Charakter des Befruchtungsvorganges und seine Bedeutung für die Theorie der Lebenserscheinungen". Leipzig 1907.

[5]) T. Brailsford Robertson, Arch. f. Entwicklungsmechanik.

of the reaction is the catalyst is that the velocity, at first comparatively low, rapidly increases and then, after attaining a maximum, declines as the reaction approaches equilibrium. The maximum velocity occurs when the concentration of the catalysing product (in monomolecular reactions) has reached half its maximum value, that is, referring to the equation given above, when $x = {}^1/_2 A$. The velocity of a reaction which is not autocatalysed, on the contrary, falls from the beginning of the reaction to the end.

II. The Biochemical Significance of the „Staircase“ phenomenon and of Fatigue in Muscle.

It is well-known that when a muscle is repeatedly stimulated either directly or indirectly through its nerve, the first few contractions gradually and with considerable regularity increase in height until they reach a maximum for a given stimulus. This phenomenon, to which the name of „treppe“ or the „staircase“ was given by Bowditch[1]), has been the subject of considerable investigation and conjecture.[2]) Of a similar nature is the phenomenon of „Summation of Stimuli“, whereby a stimulus of insufficient strength to give rise to a response may be made, by repitition, to elicit a response.[3])

It is to Waller we owe the suggestion that the „staircase“ is, in reality, due to the production of CO_2 in the

[1]) Bowditch, Ber. d. Math.-phys. Klasse d. kgl. Sächs. Ges. d. Wiss. **23**, 652, 1871. — Arbeiten aus der Physiol. Inst. zu Leipzig **6**, 139, 1871.

[2]) Tiegel, Arbeiten aus der Physiol. Anst. zu Leipzig **1875**, quoted after Burdon-Sanderson, Schäfers Text-book of Physiol. Edinburgh **2**, 381, 1900. — Marey, Journ. de l'Anat. et de la Physiol. **3**, 225, 1866. — Roßbach and Harteneck, Arch. f. d. ges. Physiol. **15**, 1, 1877. — Romanes, Phil. Trans. Roy. Soc. London **167**, 659, 1877. — „Jellyfish, Starfish and Sea-urchins.“ Int. Sci. Ser. **1885**, 56. — Minot, Journ. of Anat. and Physiol. **12**, 297, 1877. — Sewall, Journ. of Physiol. **2**, 164, 1879. — Buckmaster, Arch. f. Anat. u. Physiol., Physiol. Abt. **1886**, 459.

[3]) Helmholtz, Quoted after Burdon-Sanderson, Schäfers Text-book of Physiol., Edinburgh **2**, 380, 1900. — Richet, Physiologie des muscles et des nervs, Paris 1882. — Engelmann, Arch. f. d. ges. Physiol. **3**, 280, 1870; **29**, 453, 1882.

excited tissue.[1]) He observed that small amounts of CO_2 augment the electrical response of nerve to stimulation and that a short tetanisation of the nerve produced a precisely similar augmentation. Lee has extended this idea[2]) and has pointed out that the action of the products of muscular activity upon muscle is twofold; producing in moderate quantities or for a short time increase in the irritability and working-power of the muscle, while in larger quantities or after a longer period of action they produce a marked depression or „fatigue" of the muscle.

It appears to have escaped the notice of investigators, however, that we have, in this behaviour of muscular tissue a precise analogue to the behaviour of the reacting substances in an autocatalysed chemical reaction, such as those described above, in which one of the products of the reaction is the catalyst. If we consider a muscle which is being tetanised by rapidly repeated stimuli it is evident that the rate at which the muscle is doing work may be regarded as an expression of the rate at which the underlying chemical changes are taking place. During the initial or rising part of the curve of tetanus, which is nearly always to be observed, the velocity of the chemical changes must therefore be increasing, during the period of maximal contraction and while the recording lever remains at a constant level it is evident that the rate of doing work and, therefore the velocity of the underlying chemical changes is remaining practically constant; during the third or descending part of the curve the velocity of the chemical changes is evidently decreasing. Similar considerations apply, of course, when the muscle, instead of being stimulated at indefinitely small intervals is being stimulated at longer intervals. During all this period the „products of fatigue", or, in other words, the products of the underlying chemical reactions, have been gradually accumulating and we have seen that as the products accumulate the velocity of the reaction at first increases until it reaches a maximum and then falls, in other words behaves precisely in the same way as the velocity of

[1]) A. D. Waller, Croonian Lecture. Phil. Trans. Roy. Soc. London 188, 1, 1897.

[2]) Lee, Amer. Journ. of Physiol. 18, 267, 1907.

an autocatalysed chemical reaction, under similar conditions, when one of the products of the reaction is the catalysor. When, in addition, we recollect that it has been shown by direct experiment that substances (CO_2 Lactic acid, KH_2PO_4) produced during the activity of muscle do increase its irritability and the magnitude of its response to stimuli and that, furthermore, these same substances in larger amount or after acting upon the muscle for a longer time also diminish or even abolish its irritability and the magnitude of its response to stimuli[1]) there can, I think, remain very little doubt that the chemical processes underlying muscular activity are of the nature of autocatalysed reactions of that type in which one or more of the products of the reaction act at the same time as catalysors of the reaction.

In the central nervous system we meet with phenomena which are in many respects analogous to the „staircase“ phenomenon and subsequent fatigue in muscles. We know that an increase in the CO_2 tension of the blood supplied to the brain at first accelerates and later, if the increase in CO_2 tension be sufficiently great, inhibits the rhythmic discharge of impulses from the respiratory centre or centres,[2]) and it is by no means improbable, from a consideration of investigations to be described in this paper, that CO_2 is one of the products of the activity of the nerve-cells in the central nervous system. It appeared of interest, therefore, to determine whether, in the central nervous system as in muscle, substances similar to those produced during the stimulation of the nerve-cells accelerate

---

[1]) Ranke, Quoted after Burdon-Sanderson, Schäfer's Textbook of Physiol., Edinburgh 2, 389, 1900. — Mosso, Trans. Internat. Med. Cong. Berlin 1890. — „Fatigue“, Transl. by Drummond and Drummond, London 1904, Chapter 5. Cf. in this connection, an interesting investigation by Winterstein, Arch. f. d. ges. Physiol. This observer has shown that if the formation of lactic acid in the muscle be prevented by subjecting the muscle to a high pressure of oxygen the onset of rigor, due to excessive stimulation, is delayed or altogether prevented.

[2]) Haldane and Priestly, Journ. of Physiol. 32, 225, 1905. — Cf. Starling Croonian Lecture 1905, Collected papers from the Physiological Laboratory of University College London 14, Nr. 1, 1905—06.

the processes underlying their activity, Accordingly the following investigations were undertaken.

2. Experimental.

I. On the Production of Acid in Nerve-Cells as a result of Excitation.

It has been demonstrated that the „staircase" phenomenon that is, the successive augmentation of the first few responses to repeated stimuli, occurs in the central nervous system.[1]) As I will show in the sequel it is possible to induce a similar augmentation of response through the action of substances similar to those produced in nerve-cells as a result of their activity.

It has been pointed out by Mosso[2]) that the fatigue-products of nerve-centres and those of muscle are probably very similar in nature, since mental fatigue is accompanied by signs of muscular fatigue and vice-versa. We are fortunately in no doubt as to the origin of these fatigue-products in the central nervous system since no one has yet been able to demonstrate directly chemical products of the activity of nerve-fibres. Bethe's fibril-acids afford a possible exception[3]), but they require enormously prolonged electrical stimulation to evince themselves and they may, not improbably, be disintegration-products due to the chemical and structural changes which nerves so rapidly undergo after removal from the body or after otherwise undergoing injury;[4]) on the other hand, they may simply be among the varied products of prolonged electrolysis of organic solutions. It is not probable that any very great degree of chemical change accompanies the activity of nerve-fibres, since the most delicate methods fail to reveal any production of heat as a result of prolonged stimulation.[5]) Nerve-

---

[1]) C. S. Sherrington, Schäfer's Text-book of Physiol., Edinburgh, 2, 841, 1900.

[2]) Mosso, Arch. f. Anat. u. Physiol., Physiol. Abt. 1890, 129.

[3]) Bethe, Allgemeine Anatomie und Physiologie des Nervensystems, Leipzig 1903.

[4]) Hardesty, Amer. Journ. of Anat. 4, 329, 1905.

[5]) Rolleston, Journ. of Physiol. 2, 208, 1890.

cells, on the contrary, disengage considerable heat as a result of their stimulation.[1]) The products of the activity of the Central Nervous System, therefore, must, for by far the greater part, come from the nerve-cells.

Among the products of muscular activity are two acids, sarcolactic acid and carbonic acid and we should therefore expect, a priori, if the products of muscular and of nerve-cell activity are similar, to find acid set free in the central nervous system as a result of its activity or fatigue. The statement is commonly made that this is the case[2]) and that the acid is lactic acid[3]), but the evidence does not appear to be of a highly satisfactory nature. The increase in the acidity or hydrogen ion concentration in the brain as a result of prolonged excitation can, however, be readily shown in the following manner: — In a previous paper[4]) I have pointed out that the sensitiveness of and indicator to changes in hydrogen or hydroxyl ion concentrations can be greatly augmented by the use of an appropriate solvent immiscible with water. If to 10 ccm of a concentrated ($2\,^0/_0$) and very faintly acid solution of neutral red we add a single drop of $^n/_{10}$ KOH the colour of the solution does not perceptibly change, nevertheless a great change is seen in respect to the lipoid-solubility of the neutral red if we shake up the original and the faintly alkaline solutions with Ethyl Acetate. On shaking up with the faintly acid solution the Ethyl Acetate remains absolutely colourless, while on shaking up with the faintly alkaline solution the Ethyl Acetata layer is stained deep yellow. In two ways the indicator is rendered more sensitive by this method; in the first place a trace of the yellow modification of neutral red, which would be invisible in watery solution owing to the great excess of the red modification, is removed by the Ethyl Acetate and

---

[1]) Mosso, Croonian Lecture, Phil. Trans. Roy. Soc. London 183, 299, 1892. — Arch. Ital. de Biol. 22, 264, 1895.

[2]) Heidenhain, Centralbl. f. d. med. Wiss. 1868, 833. — Gscheidlen, Arch. f. d. ges. Physiol. 8, 171, 1874. — Obersteiner, Arch. f. Psychiatrie 29, quoted after the Journ. of Anat. and Physiol. 7, 176, 1872. — Moleschott and Battistini, Arch. Ital. de Biol., 8, 90, 1887.

[3]) Gscheidlen, l. c.

[4]) T. Brailsford Robertson, Journ. of Biol. Chem. 4, 1, 1908.

thereby rendered visible. In the second place let us suppose that the coefficient of distribution, $\frac{\text{concentration of lipoid layer}}{\text{concentration of watery layer}}$ is 100 : 1 for the yellow modification of neutral red and zero for the red modification. Then at any given concentration b of hydroxyl ions, if y be the concentration of the red modification and x that of the yellow modification:

$$x = kf(b)y$$

where k is a constant. Now let this solution be shaken up with Ethyl Acetate and let the concentration of the yellow modification in the watery layer now be x_1, while that of the red modification is y, and that of the yellow modification in the lipoid layer is x_2, then we have: —

$$x_1 = kf(b)y_1$$
$$x_2 = 100 x_1$$
$$x_2 = 100 kf(b)y_1$$

that is, the concentration of the yellow modification in the lipoid layer is 100 times its concentration in the watery layer and, provided $f(b)$ were a linear function, it is the same as would be produced in the watery layer by 100 times the concentration of hydroxyl ions. In other words, what we may define as the „sensitiveness" of the indicator, namely, the concentration of the new modification of the indicator which is produced by a given excess of hydrogen or hydroxyl ions is, if we use another solvent immiscible with water and compare the two layers, multiplied by the distribution-coefficient between the two solvents of the new modification of the indicator. In addition to this, as I have said, we have an apparent or „physiological" increase in the sensitiveness of the indicator, due to the physical separation of the two colours.

Two frogs were taken, A und B. A was left unstimulated while B was stimulated for half an hour with the induced current supplied by two Edison-Leland cells, the secondary coil being pushed home over the primary. The region chosen for stimulation was the epidermis surrounding the anus; the electrodes were about 4 to 5 mm apart. After the stimulation of B had been completed both brains were extracted rapidly, with as little injury

as possible and without previously pithing the frogs. The roof of the skull was removed by means of a fine pair of bone-forceps and the brain, from the root of the olfactory nerves down to the tip of the fourth ventricle, was removed, the whole operation taking not more than from 2 to 3 minutes for each frog. The brains were divided longitudinally and the two parts of each were placed in a $2^{0}/_{0}$ solution of Neutral red for from 4 to 5 minutes; they were then taken out and placed in Ethyl Acetate; the two brains were placed in the neutral red solution exactly at the same moment, so that any differences in the depth of stain imparted during the process must have been due to previous treatment.

After 5 minutes there was a distinct difference between the cut surfaces of the two brains; the cut surface of the brain of the frog which had been stimulated was deep red, that of the brain of the unstimulated frog was pink. In 25 minutes the difference was very marked; viewed through the liquid, which was stained somewhat yellow, the cut surface of the brain of B was red while that of the brain of A was pale yellowish pink. After 1 hour the cut surface of the brain A was colourless and that of the brain B was reddish pink.

Evidently the brain becomes more acid as a result of prolonged stimulation of sensory nerves. Exactly the same method may be used with success to demonstrate the development of acid in muscular tissue as a product of fatigue, only in this case the difference is more readily brought out if the Ethyl Acetate be previously rendered faintly alkaline (20 ccm Ethyl Acetate plus $^{1}/_{10}$ ccm $^{n}/_{10}$ KOH); in the stimulated muscle the acit formed neutralises the alkali and, the neutral red being mainly in the form of the compound with acid remains in the watery layer, that is, in this instance, in the muscular tissue, while in the unstimulated muscle, the reaction of the watery layer being neutral or faintly alkaline, the neutral red is mainly present in the form of the free base and therefore passes out into the Ethyl Acetate layer.

The experiment with Frog's brains was repeated a number of times, in some instances te anal region, in others the thighs or abdominal walls being chosen as the region for stimulation; in every case results similar to that described above

were obtained. The development of acid in the brain as a result of stimulating sensory nerves must be slight, however, as an attempt to emphasise still further the difference between the stimulated and unstimulated brains by rendering the Ethyl Acetate faintly alkaline only resulted in the partial or complete obliteration of the difference. Other indicators besides Neutral Red were tried, but although differences between the stimulated and the unstimulated brains were in some cases detected, yet the most decided and invariable results were obtained when Neutral Red was used.

In connection with these experiments it should be noted that a cut surface must be exposed to the action of the indicator and of the Ethyl Acetate, for in the case of the brain the pia and in the case of muscular tissue the sarcolemma take up the stain about equally deeply whether the tissue has been subjected to excitation or not. In the unstimulated brains which have been treated by the above method the cut surface and the superficial connective tissue are, after extraction with Ethyl Acetate, equally deeply stained, the cut surface being deep pink and the connective tissue red, while in the case of the unstimulated brain the cut surface s almost colourless while the pia is stained red. After prolonged extraction the difference between the stimulated and unstimulated brains in this respect disappears, both becoming inearly colcurless and much shrunken and hardened, owing to the extraction of water and, consequently, of the neutral Red also.

From these considerations it appears practically certain that among the products of the chemical processes underlying the activity of nerve-cells is a substance having the properties of an acid.

That the increased acidity of the brain as a result of stimulation is not simply due to acid having been carried thither from the tetanically contracting muscles of the body by the blood-stream is shown by the fact that the development of acid as a result of stimulation is very much diminished or even abolished by the previous injection into the dorsal lymph-sac of a suitable dose of Esserin Sulphate which paralyses the central nervous system while, on the other hand, it excites

muscular tissue.[1]) Two frogs were taken, A and B, B was injected with 4 ccm of a $5^0/_0$ solution of Esserin Sulphate, after about 15 minutes the respirations of B were very slow and subject to periodical pauses of long duration. Each Frog was then stimulated in the anal region with the interrupted current obtained from one Edison-Leland cell, the coil being pushed home, for half an hour. The respiratory movements of B ceased almost entirely but the limbs in both frogs went into tetanic contractions. After stimulation had been completed the brains of both frogs were extracted, divided longitudinally, and stained for 4 minutes in $2^0/_0$ Neutral Red. After then soaking them in Ethyl Acetate for from 40 to 50 minutes, a most marked difference between the two brains was observed; A was red to pink while B was yellow to pink. Evidently far more acid had been developed in the brain of the frog which had not been previously treated with Esserin than in the brain of the frog which had, although in both cases the musculature was thrown into violent tetanic contractions, owing to the direct stimulation of the muscles and motor fibres.

II. On the influence of Various Substances. applied directly to the Medulla Oblongata, upon the Respiratory Rhythm in Frogs.

Recent experiments by Maxwell[2]) have shown that the nerve-cells in the cerebral cortex are not stimulated by the ordinary nerve-stimulants, such as oxalates, citrates, tartrates etc. Garrey[3]) has shown that inhibition of the heart-beat may result from applying isotonic solutions of these salts directly to the spinal cord or medulla; it is probable, however, that in these experiments it is the nerve-fibres or nerve-endings which are stimulated and not the nerve-cells; in Maxwell's experiments the possibility of stimulating nerve-fibres was excluded, and no motor effect could be detected as a result of applying these salts to the cortical nerve-cells. These results would not justify us in concluding, however, that no chemical substances can modify the processes which occur in nerve-cells,

---

[1]) Harnack und Witkowski, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 5, 401, 1876. — Harnack und Mayer, Ibid. 12, 366, 1880. — Cf. Cushny, „Pharmacology and Therapeutics", third Edn., New York, p. 324.

[2]) S. S. Maxwell, Journ. of Biolog. Chem. 2, 183, 1906.

[3]) Garrey, California State Journ. of Medicine, July 1907.

for such a conclusion would seriously conflict with much therapeutic and pharmacological evidence; moreover Landois[1]) and Maxwell[2]) have shown that Creatin stimulates the motor areas of the cortex and Maxwell has demonstrated that this effect is due to stimulation of the grey matter. We are furthermore in possession of the fact, to which I have alluded, that an increase in the CO_2 tension of the blood supplied to the brain at first accelerates and later, if the increase in CO_2 tension be sufficiently great, inhibits the rhythmic discharge of impulses from the respiratory centre or centres. It thus appeared possible that although the ordinary nerve-stimulants do not excite nerve-cells, yet some other group of substances might be found which does so. Accordingly the following experiments, of which I hope to give a fuller account elsewhere, were undertaken.

The roof of the skull, in frogs, was removed by means of a fine pair of bone forceps as far down as the tip of the fourth ventricle; in some instances the membrane covering the floor of the fourth ventricle was removed, in others not, but doubtless in nearly all instances it was perforated. The cerebrum was removed by cutting across the thalamencephalon just in front of the optic lobes; by this means it was found that a more regular respiratory rhythm was obtained, the frog was quieter, and the results were more uniform. The cavity left in the skull by the removal of the cerebrum was then plugged with absorbent cotton and absorbent cotton was placed all round the wound so as to absorb any fluid which might escape from the depression left by the removal of the roof of the skull. With practice the operation could be performed in from 3 to 4 minutes, and, if successful, within from 3 to 5 minutes after the operation respiration, which at first is suspended, is resumed. After from 5 to 10 minutes, the rhythm of respiration usually becomes constant, and, if the frog be left untouched, remains so for over two hours.

After an interval of 15 minutes, to allow all shock effects to subside, drops of various solutions were placed upon the

---

[1]) Landois. Deutsche med. Wochenschr. 13, 685.

[2]) S. S. Maxwell, Journ. of Biolog. Chem. 3, 21, 1907.

exposed surface of the medulla oblongata and their effect upon the respiratory rhythm noted.

It was found that $^n/_{10}$ solutions of acids (hydrochloric, sulphuric, lactic, oxalic) caused a notable acceleration. Thus in a frog breathing at the rate of about 19 respirations a minute the application of $^n/_{10}$ H_2SO_4 quickened the rate, within two minutes, to 50 respirations per minute. In other instances less acceleration was obtained, but in all cases it was very marked, except when the respiratory rhythm before the application of the acid was very convulsive and irregular in character owing to injury of the medulla during the operation; in these instances it is possible that only the spinal centres were functioning.

One per cent KCN caused complete stoppage of respiration within three to five minutes. Strong reducings agents (1 percent Formaldehyde, $^n/_{10}$ K S, $^n/_{10}$ hydroquinol, $^3/_4$ n sulphurous acid) caused marked slowing or stoppage of respiration; the application of hydriquinol was also followed by the muscular tremblings and cramps such as were found by Landois and Maxwell to follow the application of Creatin to the cortex in mammals; Oxidising agents (20 $^0/_0$ Kahlbaum's C. P. H_2O_2. $^n/_{10}$ $KMnO_4$, $^n/_{10}$ Fe_2Cl_6) accelerated the rhythm, but not markedly. Respiration was inhibited by $^n/_{10}$ $CuCl_2$ and slowed, but not markedly, by $^n/_{10}$ $HgCl_2$. Solutions of a much higher osmotic pressure than the blood (e. g. pure glycerol) moderately accelerate the rhythm and render it irregular; prolonged action of solutions of a much lower osmotic pressure than the blood (distilled water, tap water) greatly slows the respiratory rhythm and may ultimately suppress it altogether. In confirmation of Maxwell's results I find that Sodium Oxalate and Barium Chloride, both powerful nerve-fibre stimulants, have no noticeable effect upon the rhythm. It may be questioned whether the effects observed are really due to the direct action of the substances upon the respiratory centre or whether they are reflex effects due to the action of the substances upon nerve-fibres. If, however, we cover the lower limbs of the frog, treated as described above, with a sheet of filter-paper saturated with $^n/_{10}$ HCl, after 3 or 4 minutes of violent struggling the frog becomes quiet and the respirations, at first inhibited, are

resumed; although occasional convulsive movements occur, these become less and less frequent and respirations continue except during the actual convulsions. The rate of the respirations is, however, unaltered for the first six minutes; in from 10 to 12 minutes they may be accelerated 10 per cent but not more. Now the time which elapses before the respirations are quickened is only 1 to 2 minutes when the acid is applied directly to the medulla and the animal usually does not struggle at all. Moreover the two effects, the effect upon the respiratory centre and that upon nerve-fibres, can readily be distinguished from one another in the case of $^{n}/_{10}$ oxali acid. At first the normal effect of an acid upon respiration is observed, namely a marked quickening of the rhythm so that after 10 minute the rate may be doubled. If further applications of oxalic acid be made, the rate continues to increase until over one half hour after the first application of oxalic acid when the muscles of the whole animal go into prolonged tetanic contractions; the former effect is that of the acid upon the respiratory centre, the latter effect is that of the oxalic acid anion upon nerve-fibres.

In reviewing the above results we are led to suspect that the processes which occur in nerve-cells as a result of their stimulation are of the nature of oxidations, since they are accelerated by oxidising agents and slowed by reducing agents, confirmation of this idea is afforded by the action of KCN in slowing or even altogether inhibiting the activity of the nerve-cells, since KCN is known to inhibit oxidations in living organisms.[1])

One fact, however, stands out perfectly clearly and that is that acids accelerate the processes underlying the activity of nerve-cells, while, at the same time, these processes lead to the setting free in the nerve cells of a substance or substances of an acid nature. The processes underlying the activity of nerve-cells are therefore of the nature of autocatalysed chemical reactions in which one of the products of the reaction is the catalysor, and, probably, are autooxidations.

---

[1]) Schönbein, Quoted after Loeb, „Dynamics of Living Matter", New York 1906, S. 27. — Geppert, Zeitschr. f. klin. Med. 15, 208 und 307. — Budgett, Amer. Journ. of Physiol. 1, 210, 1898.

III. Summary and Conclusions.

1. The initial increase in the irritability and working-power of a muscle subjected to repeated stimuli (the „Staircase“ phenomenon) and their subsequent decrease („Fatigue“) when the repeated stimuli are applied for longer periods are strictly analogous to the initial increase and subsequent decrease in the velocity of an autocatalysed chemical reaction, in which one of the products of the reaction is the catalysor, as the products accumulate in the system.

2. Since it has been shown by previous observers that the products of muscular activity initially or in small amounts increase muscular irritability and working-power while acting for longer periods or in greater amount they decrease the irritability and working-power of muscular tissue, we may infer that the chemical processes underlying the activity of muscular tissue are of the nature of autocatalysed reactions in which one or more of the products of the reaction act as catalysors.

3. It is shown by a new method that one of the products of the activity of nerve-cells is a substance having the properties of an acid.

4. It is shown that acids and oxidising agents, when applied directly to the medulla oblongata in frogs, accelerate the respiratory rhythm, while reducing agents slow or inhibit it.

5. It is inferred that the processes underlying the activity of nerve-cells are also of the nature of autocatalysed chemical reactions in which one of the products of the reaction is the catalysor, and, moreover, that they are probably autooxidations.

Physikalisch-chemische Veränderungen einiger normalen Flüssigkeiten während ihres Fäulnisprozesses.

Von

Osw. Polimanti, Rom.

Die physikalisch-chemischen Veränderungen, denen abgestorbene tierische Gewebe unterworfen sind, werden hauptsächlich durch den Fäulnisprozeß verursacht, der gleich nach dem Aufhören der Lebenstätigkeit einsetzt.

Dieselben Veränderungen erleiden auch die verschiedenen Flüssigkeiten des tierischen Organismus. Alle diese Prozesse werden hauptsächlich durch die Tätigkeit fast sämtlicher Arten der auf den Geweben und Flüssigkeiten sich ansiedelnden Schizomyceten verursacht, ganz besonders von Saprophyten. In jene Substrate eingedrungen, verursachen sie eine Gärung und verwandeln z. B. Zucker in Milchsäure, Harnstoff in Ammonmincarbonat usw., dabei CO_2 und H_2O entwickelnd; während andere, auf Eiweißsubstanzen sich ansetzende Fäulniserreger basische Körper ähnlich den Alkaloiden (von Beschaffenheit der Ptomaine) sowie organische Fettsäuren, wie Ameisensäure, Proprionsäure, Valeriansäure, Milchsäure usw. und flüchtige Produkte wie NH_3, H_2S produzieren.

Der Feuchtigkeitsgehalt und die Temperatur des Raumes wirken erheblich auf die Prozesse ein.

Die vorkommenden Veränderungen im physikalisch-chemischen Zustande der in Fäulnis befindlichen organischen Substanzen werden außer durch die Tätigkeit der Schizomyceten auch durch diejenige der Enzyme oder Fermente verursacht.

Diese Substanzen haben, wie man weiß, eine außergewöhnlich langdauernde Widerstandskraft; sie übertrifft diejenige der Schizomyceten; sie behalten ihre Lebensfähigkeit

noch bei 160° und haben vor allen Dingen die Eigenschaft, in kleinen Mengen auf größere Quantitäten wirken zu können.[1])

Galeotti[2]) war der erste, welcher die verschiedenen physikalisch-chemischen Veränderungen, die in abgestorbenen tierischen Protoplasma eintreten, studierte und Untersuchungen über die elektrische Leitfähigkeit und den osmotischen Druck der tierischen Gewebe vornahm. Er hat folgendes festgestellt:

Beim Absterben der Gewebe geht die elektrische Leitfähigkeit auf ein Minimum herunter und steigt sofort wieder an, nachdem die Fäulnis eingetreten ist; dasselbe Verhältnis tritt ein bei Abtötung der Gewebe durch Hitze oder Gefrieren.

Beim langsam gerinnenden Blut vermindert sich (erstens durch die Verbindung der Elektrolyte mit Kolloiden, und zweitens durch Ansammlung von Fibrin und roten Blutkörperchen zwischen den Elektroden) die Leitfähigkeit, welche jedoch wieder bei starker, durch Hitze hervorgebrachter Gerinnung normal wird. Die durch die Erwärmung des Blutes und des Serums erzeugte Gerinnung verursacht keine Veränderung in der elektrischen Leitfähigkeit.

Die Kurven, welche die Veränderung der elektrischen Leitfähigkeit der abgestorbenen Gewebe darstellen, sind, auf die Temperatur bezogen, einfach, kontinuierlich, regelmäßig, parabolisch, im Gegensatze zu den Kurven von lebenden Geweben, welche sehr kompliziert sind. Diese zeigen in dem Punkt, wo das Absterben der Gewebe eintritt, eine Schwankung und weisen nachher die gleichen regelmäßigen Kurven wie bei bereits abgestorbenen Geweben auf.

Sehr interessant ist der Befund von Galeotti, daß sich die elektrische Leitfähigkeit der Gewebe im Momente des Absterbens vermindert; er erklärt dies Phänomen, welches beim Absterben von Protoplasma eintritt, durch die Fixierung von freien Ionen mit den Molekülen der Eiweißcolloide, so daß sich durch eine Neutralisierung der gegenseitigen elektrischen

---

[1]) Brieger, Microbes, ptomaines et maladies. Traduit par Roussy et Winter, Paris 1886. — Ellinger, Chemie der Eiweißfäulnis. Ergebnisse von Asher und Spiro 6, 29, 1907.

[2]) Galeotti, Neue Untersuchungen über die elektrische Leitfähigkeit und den osmotischen Druck der tierischen Gewebe. Zeitschr. f. Biol. 45, 65.

Schläge von den kolloidischen Teilchen die freien Ionen nicht mehr elektrolytisch dissoziieren können.

Die von ihm erhaltenen Resultate zeigen, daß bei dem Übergange vom Leben zum Absterben der Gewebe die elektrische Leitfähigkeit des Herzens, der Milz und der Muskelgewebe eine relative Verminderung von 30,98 %, 41,97 %, 44,93 % erfahren hat, während die molekulare Konzentration gleich geblieben ist.

Man schließt auch aus den Reaktionen, welche beim Absterben des Protoplasmas stattfinden, daß die Zahl der freien Ionen sich vermindert, während die Zahl der aktiven osmotischen Moleküle gleich bleibt oder sich ganz wenig verändert.

Aus den von Galeotti erzielten Resultaten läßt sich der Schluß ziehen, daß, sobald die Fäulnis eintritt, die elektrische Leitfähigkeit sowie die molekulare Konzentration sich vermindern, und er erklärt das dadurch, daß die Fäulnis eine große Zahl Ionen und elektrisch neutrale, aber osmotisch aktive Moleküle, hervorruft.

Galeotti[1]) studierte außerdem die elektrischen Phänomene des Herzens, und schließt aus den Unterschieden der elektromotorischen Kraft des OH auf die Herzgewebe der lebenden oder toten Schildkröten hypothetisch, daß die Konzentration der H-Ionen und der OH-Ionen, wie sie sich in lebendem Myoplasma vorfinden, kein festes System bilde, außerhalb dem Dissoziations-Isotherme des Wassers liege, aber gleich nach dem Absterben diese erreiche.

Alle diese Resultate sind von großer Bedeutung, was die einzelnen physikalisch-chemischen Prozesse anbelangt, die in lebenden oder abgestorbenen Eiweißsubstanzen vorkommen.

Um die kryoskopischen und viscosimetrischen Variationen einiger normaler tierischer Flüssigkeiten zu studieren, habe ich menschlichen Harn, Ochsenblut, menschliche Galle, Ochsengalle, Blutserum von Ochsen und Hunden genommen und bei vollem Tageslicht in geschlossenen Gefäßen, welche die Verdunstung verhinderten, konserviert und bei Zimmertemperatur (10° bis 20°) stehen lassen.

---

[1]) G. Galeotti, Sui fenomeni elettrici del cuore. Nota I, II, III. Archivio di Fisiologia 1, 1903—04, 264, 512, 556.

Was die Untersuchungsmethode anbetrifft, um das △ zu bestimmen, so habe ich den Beckmannschen Apparat und ein Baudin-Thermometer mit Zehntelgrad-Einteilung benutzt. Um die Viscositätsgrade zu bestimmen, gebrauchte ich das Ostwaldsche Viscosimeter, das ich außerdem noch in einen Glasbecher setzte, in dem die Wassertemperatur durch einen Glasrührer beständig auf 20° erhalten wurde. Als Vergleichseinheit für die viscosimetrischen Werte habe ich die Ausflußzeit des destillierten Wassers genommen.

Die Versuche für das △ sowie auch die Viscosimetrie habe ich mindestens dreimal wiederholt und nachher die Durchschnittszahl der gefundenen Resultate genommen.

In tabellarischer Form stelle ich die gefundenen Resultate für die verschiedenen untersuchten Flüssigkeiten im folgenden zusammen.

I. Menschlicher Harn.

Tabelle I.

Harn 1.

Datum 1905—1906	Alter in Tagen	△	Ausflußzeit[1])	Spezifisches Gewicht
22—12	0	1,90	1′ 39″ 3/10	1,020
28—12	6	1,90		
4—1	13	1,89		
5—1	14	1,92	1′ 48″	1,021
8—1	17	1,80		
9—1	18	1,72		
11—1	20	1,75	1′ 41″ 5/10	1,0213
15—1	24	1,71		
18—1	27	1,78		
20—1	29	2,27	1′ 41″ 8/10	1,0225
23—1	32	2,54		
26—1	35	2,29		
4—2	44	2,28	1′ 42″ 6/10	1,023
12—2	52	2,28		
16—2	56	2,20		
18—2	58	2,19	1′ 43″	1,0235
4—3	72	2,19		
14—3	82	2,19	1′ 54″	1,0236
19—3	87	2,17		
1—4	100	2,12	1′ 54″ 7/10	1,024

[1]) Viscosimeter 4. Wert für H_2O = 1′ 36″ 6/10.

Tabelle II.

Harn 2.

Datum 1906	Alter in Tagen	△	Ausflußzeit[1])	Spezifisches Gewicht
4—1	0	1,52	1′ 46″ $^{9}/_{10}$	1,019
5—1	1	1,53		
6—1	2	1,53		
8—1	4	1,53	1′ 47″	1,020
11—1	7	1,53		
15—1	11	1,58		
19—1	15	1,70		
21—1	17	2,00		
22—1	18	2,10	1′ 47″ $^{6}/_{10}$	1,022
24—1	20	2,20		
25—1	21	2,22		
26—1	22	2,18		
4—2	31	2,18	1′ 48″ $^{5}/_{10}$	1,0225
12—2	39	2,21		
18—2	45	2,18	1′ 49″	1,0225
4—3	59	2,18		
19—3	74	2,14		
1—4	87	2,12	1′ 58″ $^{6}/_{10}$	1,0235

1) Viscosimeter 6. Wert für $H_2O = 1' 46'' \, ^{5}/_{10}$.

Tabelle III.

Harn 3.

Datum 1906	Alter in Tagen	△	Ausflußzeit[1])	Spezifisches Gewicht
6—1	0	1,54	1′ 55″	1,020
9—1	3	1,54		
10—1	4	1,52	2′ 0″	1,020
11—1	5	1,52		
17—1	11	1,58	2′ 10″ $^{6}/_{10}$	1,0205
20—1	14	1,56		
26—1	20	1,65	2′ 20″ $^{4}/_{10}$	1,0205
12—2	37	1,82		
4—3	57	1,44	2′ 44″	1,0215
19—3	72	1,28		
23—3	76	1,22	2′ 26″	1,021
1—4	85	1,10		

1) Viscosimeter 2. Wert für $H_2O = 1' 39'' \, ^{3}/_{10}$.

Tabelle IV.

Harn 4.

Datum 1906	Alter in Tagen	△	Ausflußzeit[1])	Spezifisches Gewicht
13—1	0	1,58	1′ 51″ $^{1}/_{10}$	1,0205
18—1	5	1,60		
21—1	8	1,69	1′ 53″ $^{3}/_{10}$	1,021
24—1	11	1,82		
4—2	22	2,24		
12—2	30	2,46	1′ 54″ $^{6}/_{10}$	1,0215
3—3	49	2,48		
4—3	50	2,48	1′ 55″ $^{4}/_{10}$	1,022
19—3	65	2,48		
1—4	78	2,42	1′ 64″ $^{8}/_{10}$	1,022

[1]) Viscosimeter 3. Wert für $H_2O = 1' 46'' \, ^{8}/_{10}$.

Bei Durchsicht meiner Tabellen, welche die Resultate der Experimente über den menschlichen Harn während des Fäulnisprozesses darstellen, sieht man deutlich, daß ungefähr in den ersten 14 Tagen eine bedeutende Schwankung des osmotischen Druckes statthat. Nach Verlauf dieser Periode schnellt die Kurve der Molekular-Konzentration rapid empor und bleibt auch noch nach 3 oder 4 Monaten vom Beginne des Prozesses an konstant. Nachher vermindert sich der osmotische Druck schnell und beständig, aber ohne den Anfangswert zu erreichen.

Dieses habe ich in der Periode von 4 Monaten, während welcher von mir diese Harne untersucht worden waren, festgestellt.

Was die Viscosimetrie betrifft, so kann man sagen, daß in der ersten Zeit (bis zu 1 oder 2 Monaten) die Ausflußzeit des Harnes beständig zunimmt; nachher sinkt diese sowie auch der osmotische Druck allmählich. Wir müssen uns diese Tatsachen durch die biochemische Phänomene, welche während der Fäulnis des Harnes stattfinden, erklären.

Tatsächlich sind, wie Galeotti konstatierte, die Fäulnisprozesse der Gewebe im Anfange nicht so lebhaft; aber ist diese erste Periode, welche als Schwankungs-Periode bezeichnet werden kann, einmal vorüber, so beginnen die Fäulnisprozesse in ihrer vollen Entwicklung. In diesem Stadium, in welchem die letzten Produkte des Eisweißstoffwechsels von den Mikro-

organismen angegriffen werden, findet man eine größere Steigerung der aktiven osmotischen Moleküle.

Nach Verlauf dieser ersten starken Entwicklung der Saprophyten fangen die Stickstoffprodukte, hauptsächlich aber der Harnstoff, an, sich in gasförmige Formen zu zersetzen, welche z. T. flüchtig sind.

Von den Gesetzen der physikalischen Chemie ausgehend, weiß man, daß eine Flüssigkeit, wenn sie von allen ihren Gasen befreit wird, eine sehr starke Verminderung ihres molekularen Druckes erleidet, und hieraus folgt, daß sich die aktiven osmotischen Moleküle stark vermindern.

Aus meinen Resultaten ergibt sich auch, daß eine enge Beziehung zwischen spezifischem Gewicht, Viscosimetrie und molekularem Druck besteht, was schon Arrhenius beim Studium der Viscosimetrie der Lösungen gefunden hat. Er stellte einen nahen Zusammenhang zwischen diesen drei Faktoren fest und konstatierte, daß die Viscosität eine Exponentialfunktion der molekularen Konzentration sei.

II. Blutserum.

Tabelle V.

Blutserum von Ochsen 1.

Datum 1906	Alter in Tagen	△	Ausflußzeit[1])	Spezifisches Gewicht
10—1	0	0,55	2′ 25″ $^5/_{10}$	1,0265
11—1	1	0,51		
17—1	7	0,50		
19—1	9	0,50	2′ 30″ $^6/_{10}$	1,0268
21—1	11	0,50		
24—1	14	0,54	3′ 2″ $^7/_{10}$	1,0268
11—2	32	0,90	4′ 4″ $^6/_{10}$	1,0270
3—3	52	1,11		
17—3	66	1,20	5′ 25″	1,0295
19—3	68	1,48		
28—3	77	1,60	5′ 29″ $^5/_{10}$	
1—4	81	1,82		

[1]) Viscosimeter 1. Wert für $H_2O = 1' 53'' \, ^5/_{10}$.

Tabelle VI.

Blutserum von Ochsen 2.

Datum 1906	Alter in Tagen	△	Ausflußzeit[1])
12—1	0	0,54	2′ 25″ 4/10
13—1	1	0,56	
15—1	3	0,57	
18—1	6	0,58	2′ 30″ 5/10
21—1	9	0,60	
24—1	12	0,60	2′ 32″ 4/10
11—2	30	0,70	2′ 50″ 5/10
12—2	31	0,70	
19—2	38	0,79	3′ 20″
3—3	50	0,79	
19—3	66	0,85	5′ 24″ 2/10
21—3	68	1,1	
30—3	77	1,3	5′ 55″
1—4	79	1,4	

[1]) Viscosimeter 2. Wert für H_2O = 1′ 39″ 3/10.

Tabelle VII.

Blutserum von Hund 1.

Datum 1906	Alter in Tagen	△	Ausflußzeit[1])
6—2	0	0,58	2′ 27″ 8/10
16—2	10	0,58	2′ 29″ 6/10
5—3	27	0,76	2′ 40″ 3/10
21—3	43	0,86	
27—3	49	0,87	3′ 2″ 4/10
30—3	52	0,90	4′ 22″
1—4	54	0,98	5′ 1″ 5/10

[1]) Viscosimeter 0. Wert für H_2O = 1′ 22″ 8/10.

III. Blut.

Tabelle VIII.

Defibriniertes Ochsenblut 1.

Datum 1906	Alter in Tagen	△
9—1	0	0,52
10—1	1	0,52
11—1	2	0,54
13—1	4	0,54
17—1	8	0,57
18—1	9	0,58
19—1	10	0,60

Datum 1906	Alter in Tagen	△
20—1	11	0,60
21—1	12	0,60
23—1	14	0,63
26—1	17	0,63
4—2	26	0,68
3—3	53	0,89
21—3	71	1,40
1—4	82	1,16

Tabelle IX.

Defibriniertes Ochsenblut 2.

Datum 1906	Alter in Tagen	△
26—1	0	0,54
12—2	17	0,68
21—3	54	0,72
1—4	65	0,78

Tabelle X.

Defibriniertes Ochsenblut 3.

Datum 1906	Alter in Tagen	△
16—2	0	0,58
4—3	16	0,60
1—4	44	0,74

Meine Resultate betr. des osmotischen Druckes von Serum des Ochsen- und Hundeblutes sowie von defibriniertem Ochsenblut (siehe meine Tabellen) bestätigen, was wir bereits über den Harn gesagt haben.

In den ersten 14 Tagen haben wir jene Periode, die ich als schwankende bezeichnet habe: es steigt oder sinkt der osmotische Druck von Tag zu Tag; sobald sich aber der Fäulnisprozeß in voller Entwicklung befindet, erhöhen sich die Koeffizienten des osmotischen Druckes, bis sie einen ganz hohen Wert erreichen. Dieses gilt für die vier Monate, welche meine Versuchsperiode umfaßte.

Welchem Umstande ist nun diese beständige Vermehrung der aktiven osmotischen Moleküle zuzuschreiben?

Als ich vom Harne sprach, habe ich die Vermehrungen, welche in dieser Flüssigkeit vorkommen, der Kraft der Fäulnisprozesse zugeschrieben, besonders auch einigen seiner Komponenten, welche eine bedeutende Gasentwicklung verursachen.

Im Blute sind, seiner chemischen Beschaffenheit wegen, diese Vermehrungen verhältnismäßig größer als im Harne gewesen. Aus den viscosimetrischen Zahlen meiner Resultate mit Ochsenblutserum kann man den Schluß ziehen, daß sich die Ausflußzeit des Blutserums allmählich verlangsamt, während die Fäulnisprozesse intensiver werden; in diesem Falle gibt es auch eine sehr enge Beziehung zwischen osmotischem Drucke und Viscosimetrie, indem sie immer gleichen Schritt miteinander halten.

Buglia[1]) konstatierte auch, daß Pferdeblutserum beim Altwerden Variationen des $\triangle$ und der viscosimetrischen Koeffizienten zeigte. Meine Resultate über defibriniertes Blut betreffen nur die osmotischen Koeffizienten und diese stimmen mit denjenigen des Blutserums überein. Es war absolut unmöglich, mit defibriniertem Blute viscosimetrische Untersuchungen anzustellen, da das Kapillarrohr des Viscosimeters fast beständig von Fibrinflocken verstopft wurde.

IV. Galle.

Tabelle XI.

Menschliche Galle 1. (Mann)[2])

Datum 1905	Alter in Tagen	$\triangle$
26—6	0	0,590
19—7	23	0,660
19—8	54	0,645
12—10	120	0,640

Tabelle XII.

Menschliche Galle 2. (Mann)

Datum 1905	Alter in Tagen	$\triangle$
28—6	0	0,580
19—7	21	0,650
15—8	48	0,650
20—8	53	0,650
24—10	118	0,610

[1]) G. Buglia, Variazioni fisico-chimiche del sangue durante l'invecchiamento. Archivio di Fisiologia 4, 56, 1906.

[2]) Was die Krankengeschichte der Individuen betrifft, von denen die Galle entnommen wurde, siehe meine Arbeit: Influenza delle acque carboniche, bicarbonato-calciche ipotoniche sulla eliminazione e composizione della bile umana. Archivio di Farmacologia sperimentale 4, 1905.

Tabelle XIII.

Menschliche Galle 3. (Weib)

Datum 1905	Alter in Tagen	△
25—6	0	0,520
19—7	24	0,620
19—8	55	0,600
24—10	121	0,600

Tabelle XIV.

Ochsengalle 1.

Datum 1906	Alter in Tagen	△	Ausflußzeit[1])	Spezifisches Gewicht
9—1	0	0,52	3′ 0″ 4/10	1,0257
10—1	1	0,52		
11—1	2	0,52	3′ 0″ 8/10	1,0257
13—1	4	0,52		
15—1	6	0,51	3′ 10″ 4/10	1,0259
19—1	10	0,52		
20—1	11	0,53	3′ 20″ 9/10	1,026
23—1	14	0,57		
26—1	17	0,59	4′ 0″ 1/10	1,0261
2—2	24	0,60	4′ 18″ 8/10	1,0262
4—2	26	0,60	4′ 30″ 9/10	1,0262
11—2	33	0,60	4′ 51″ 8/10	1,0265
12—2	34	0,60		
19—2	41	0,61	5′ 17″ 8/10	1,0268
3—3	53	0,62		
6—3	56	0,62	5′ 43″ 4/10	1,0268
1—4	82	0,64		

[1]) Viscosimeter 3. Wert für H_2O = 1′ 46″ 8/10.

Tabelle XV.

Ochsengalle 2.

Datum 1906	Alter in Tagen	△	Ausflußzeit[1])	Spezifisches Gewicht
28—1	0	0,54	2′ 50″ 3/10	1,0250
29—1	1	0,54		
11—2	14	0,62	2′ 53″ 8/10	
12—2	15	0,68		
19—2	22	0,68	3′ 18″ 2/10	1,0258
23—3	54	0,73		
24—3	55	0,73	3′ 24″ 7/10	1,0258
1—4	63	0,78		

[1]) Viscosimeter 0. Wert für H_2O = 1′ 22″ 8/10.

Was die über die Galle angestellten Versuche anbelangt, so habe ich von der Ochsengalle den osmotischen Druck und die Viscosimetrie geprüft; von der menschlichen Galle hingegen nur den osmotischen Druck.

In letzterer Zeit ist diese Flüssigkeit von verschiedenen Autoren auf den physikalisch-chemischen Zustand untersucht worden, und dieselben haben fesgestellt, daß das △ der menschlichen und der tierischen Galle fast das gleiche wie das des Blutes ist; also besteht eine große Analogie zwischen diesen beiden Substanzen.[1])

Aus den Versuchen von Messedaglia und Coletti[2]) können wir einige Tatsachen erwähnen, die meine Schlußfolgerungen stützen. Diese Autoren haben nämlich für ihre Versuche die Galle menschlicher Leichen genommen und immer den osmotischen Druck viel höher als denjenigen des Blutes gefunden; diese Erhöhung ist von ihnen als normal betrachtet worden, doch müssen wir sie sicher den Fäulnisprozessen, welche in den Leichen stattfinden, zuschreiben.

Tatsächlich betrug bei den Versuchen mit der Galle von 23 Leichen der osmotische Druck zweimal zwischen 0,638 und 0,690, siebenmal 0,900, neunmal zwischen 0,908 und 1,008 und einmal 1,058.

Zur Bestätigung dieser Hypothese und in Übereinstimmung mit den Resultaten der mit andern Flüssigkeiten angestellten Versuche habe ich festgestellt, daß sowohl in der menschlichen als auch in der Ochsengalle mit der Zeit eine Erhöhung des osmotischen Druckes und der Viscosimetrie gleichzeitig mit den Fäulnisprozessen eintritt. Die erste Zunahme müssen wir uns mit der Vermehrung der freien Ionen und der osmotisch-aktiven Moleküle erklären. Die zweite Zunahme deuten wir mit der Vermehrung der Saprophyten, welche sich bis zur reinen Kultur entwickeln, sobald die Fäulnisprozesse sich steigern und dadurch bewirken, daß diese Flüssigkeit mehr Zeit beansprucht, um durch das Viscosimerrohr zu fließen.

---

[1]) Für die Literatur s. meine oben zitierte Arbeit.

[2]) Messedaglia e Coletti — Il Morgagni 1902.

Über die Wirkung schwacher Dosen auf physiologische Vorgänge und auf die Gärungen im besonderen.

Von

Charles Richet,
Professor an der Universität Paris.

Durch nachstehendes Experiment bin ich dazu gekommen, die Wirkung von schwachen Dosen auf Gärungen zu studieren.

An einer Menge von Radiumemanation, die ich von Frau Curie erhalten hatte, sah ich, daß sehr schwache Mengen derselben einen großen Einfluß auf den Verlauf der Milchsäuregärung ausübten. Nehmen wir an, daß 1 g Radium pro Stunde 0,001 g verliere — was immens übertrieben ist —, so wären die wirksamen Mengen der Emanation bei der Milchsäuregärung weniger als tausendstel Milligramme im Liter.

Darauf untersuchte ich, ob nicht Metalle, die mehr oder weniger dem Radium nahestehen, wie z. B. das Barium, in sehr schwachen Dosen ähnliche physiologische Wirkungen ausübten. Diese Vermutung bestätigte sich deutlich. Dann nahm ich verschiedene Metallsalze von Platin, Silber, Tallium Mangan, Nickel usw. und konstatierte, daß alle diese Salze, auch in außerordentlicher Verdünnung, auf den Ablauf der Milchsäuregärung einwirkten.

Experimentelle Methode. Um mit größerer Genauigkeit die Wirkung schwacher Dosen zu bestimmen, mußte eine neue Methode der Aciditätsermittelung gefunden werden, und dazu bin ich folgendermaßen vorgegangen: Haben wir 100 vollkommen gleiche Gläser mit je 100 ccm einer Milchflüssigkeit, die nach Zugabe von Phenolphtalein alkalisch regiert, so wird, wenn man nach 24stündiger Gärung alle Flaschen mit ein und derselben Menge von Pottaschelösung

neutralisiert, die Rosafärbung bei allen Flaschen genau übereinstimmend eintreten, wenn die Gärung gleichmäßig in allen 100 Flaschen verlaufen ist. Wenn aber der Verlauf verschieden war, so werden einige Gläser blaß, andere sehr stark rosa gefärbt sein, und nach der Art der Färbung wird man die Flaschen in 4 oder 5 Gruppen, bald in mehr, bald in weniger, unterscheiden können. Dann nehme ich an, die Säuremenge der beinahe blassen Flaschen sei 1, die der dunkelsten sei 5 und die der dazwischenliegenden sei 2, 3 und 4. So erhalte ich Zahlen für die Säure, die mir die übliche Dosierung nicht hätte geben können, um so weniger, als während der Dauer der Bestimmung von 100 Gefäßen, die mindestens 1 Stunde dauert, die letzteren zu gären fortfahren und die Zunahme der Säure in diesen Gläsern beträchtlicher ist als in den zuerst dosierten Gefäßen. Man vermeidet diesen Fehler, indem man gleichzeitig die Rosa-Nuance der 100 Flaschen vergleicht.

Es sind noch verschiedene Vorsichtsmaßregeln zu beachten, auf die ich nicht weiter eingehe, da sie in 4 Mitteilungen in den „Archives internationales de physiologie" (3, 130 bis 152, 203 bis 218, 1905; 3, 264 bis 282, 1906; 4, 18 bis 50) dargelegt sind.

Zur Vereinfachung nennen wir φ die Menge des Metallsalzes ($\varphi = 0{,}1$) in einem Liter der Milchflüssigkeit. Dann ist $\varphi^2 = 0{,}01$ pro Liter, $\varphi^3 = 0{,}001$ usw.

Auf einen wichtigen Punkt muß ich hier aufmerksam machen: für die minimalen Differenzen muß sich der Vergleich auf eine große Anzahl von Flaschen erstrecken; mit anderen Worten, es ist eine Durchschnittsbestimmung. Denn es können verschiedene Umstände den Säuregehalt der einzelnen Flaschen beeinflussen; aber trotz aller Vorsicht ist die Milchmenge nicht genau dieselbe, die Temperatur der verschiedenen Flaschen ist nicht absolut identisch, die Menge von Pottasche nicht vollkommen übereinstimmend usw.

Viele kleine Ursachen, die oft schwer zu ermitteln sind, werden den Säuregehalt der 100 Flaschen verändern.

Sind diese Ursachen α, β, γ, δ unmöglich zu bestimmen, so folgt daraus, daß, wenn die Flaschen vollständig vermischt sind, sie sich auf die 100 Flaschen gleichmäßig verteilen würden,

und für die 10 Gruppen von 10, die mir denselben Bedingungen unterlegen zu sein schienen, finde ich ungefähr dieselbe Durchschnittszahl. Wenn aber eine andere Ursache, die genau so schwach ist, z. B. eine Differenz von φ^6 und φ^7 an Silbernitrat hinzutritt, so wird die Durchschnittszahl für die Flaschen von φ^6, φ^7, φ^8 nicht mehr dieselbe sein, und hierdurch werden die Ursachen, die nur eine schwache Einwirkung angezeigt hätten, eliminiert, wenn ich keine Mittelwerte gebraucht hätte.

Ergebnis: Statt detaillierte Ausführung dieser Experimente zu geben, wähle ich nur zwei davon, da sie deutlicher als die übrigen sind.

I. Experiment mit Platinchlorür. Die Dosierung erstreckt sich auf Flaschen von 1000 ccm. Diejenige der Proben beträgt 100 nach der gewöhnlichen Methode und 100 nach dem Maß der Nuancen in der Färbung.

	Acidimetrische Titration	Titration nach d. Nuancen	Mittel der 2
φ^3	92,6	33	63
φ^4	94,0	50	72
φ^5	105,8	116	112
φ^6	104,0	133	118
φ^7	94,4	50	72
φ^8	103,5	106	105
φ^9	107,1	143	136

Analysieren wir diese Tabelle, so finden wir mehrere Senkungen, die sich immer bei allen Experimenten zeigen.

1. Für die starken Metallsalzlösungen φ^2, φ^3, φ^4 ergibt sich eine Verzögerung (R). Das ist die bekannte Erscheinung der gärungshemmenden Wirkung der Salze des Platins, Silbers, Quecksilbers usw.

2. Für die mittleren Lösungen (φ^5, φ^6) tritt eine Beschleunigung des Gärungsprozesses ein. Ich habe oben auf diese bemerkenswerte Erscheinung hingewiesen. Sie ist klassisch geworden. Jedes Antisepticum in schwachen Dosen beschleunigt die Gärung (A).

3. Eine noch schwächere Dosis erzeugt Verzögerung der Gärung (φ^7), eine konstante Erscheinung. Nach der Beschleu-

nigung durch die mittleren Dosen folgt Verzögerung durch die schwachen Dosen, welche wir sekundäre Verzögerung R′ nennen.

4. Wenn die Dosis außerordentlich schwach ist (φ^8, φ^9), entsteht eine sekundäre Beschleunigung A′.

So finden wir als die Wirkung eine Metallsalzes auf die Gärung, z. B. für das Platinchlorür folgende Formel:

$\varphi - \varphi^2$ sehr starke Dosen unter 0,1, Verzögerung 0,
$\varphi^3 - \varphi^4$ starke Dosen zwischen 0,001 und 0,0001, Verzögerung R,
$\varphi^5 - \varphi^6$ mittlere Dosen zwischen 0,00001 und 0,000001, Beschleunigung A,
φ^7 schwache Dosis 0,0000001, sekundäre Verzögerung R′,
$\varphi^8 - \varphi^9$ sehr schwache Dosen zwischen 0,00000001 und 0,000000001, sekundäre Beschleunigung A′.

II. Um zu zeigen, daß es sich um ein allgemeines Gesetz handelt, wähle ich als Beispiel das V a n a d i n c h l o r i d; denn mit diesem Vanadiumsalz wurden zahlreiche Versuche gemacht, die sich jedesmal auf 293 Dosierungen von 500 ccm Milch erstrecken.

Probe = 100

φ	= 83	R
φ^2	= 96,2	R
φ^3	= 99,4	R
φ^4	= 100	A
φ^5	= 103,6	A
φ^6	= 101,4	R′
φ^7	= 102,4	A′
φ^8	= 104,4	A′
φ^9	= 103,5	A′
φ^{10}	= 100,7	A′

Nun handelt es sich darum, diese Erscheinungen zu erklären. Ich wiederhole, daß sie konstant bei allen Metallsalzen sind, bei denen des Silbers Platins, Thoriums, Bariums, Kobalts, Vanadins, Mangans, Lithiums; nur das Tallium macht eine Ausnahme, das allein die Periode der sekundären Beschleunigungen nicht aufzuweisen schien, nicht einmal bei Dose φ^9, wo die Periode der sekundären Verzögerung bei so schwacher Dose noch sehr ausgesprochen ist.

Immer sehen wir, sobald wir die toxische Dosis verringern, daß der primären Beschleunigung A 2 Perioden folgen, zuerst die der sekundären Verzögerung, dann die der sekundären Beschleunigung, als ob bei gewisser Verdünnung eine neue Erscheinung aufträte, die, wenn sie intensiv ist, eine Verzögerung, wenn sie schwach ist, eine Beschleunigung dieser Gärung bewirkt.

Das ereignet sich alles so, wie wenn bei den Dosen von ca. φ^5 die chemische Wirkung des Metallsalzes durch eine Wirkung anderer Art ersetzt würde, z. B. physikalischer Natur, die bei starker Dosis Verzögerung, bei schwacher erhöhte Wirksamkeit hervorruft.

Das ist ja offenbar nur eine Hypothese, doch führen die neuesten Arbeiten der Physiker und Chemiker zu der Ansicht, die Materie ließe sich in elektrische Kräfte oder Elektronen verwandeln, die alle identisch sind, wie verschieden auch die Materie war, aus welcher sie entstanden sind.

Meine Erfahrungen scheinen diese kühne Hypothese zu unterstützen. Es ist sehr leicht möglich, daß unter dem Einfluß einer außerordentlichen Verdünnung das Molekül genötigt wäre, sich auf die verschiedenen Teile der Lösung ungleich zu verteilen, was ziemlich unwahrscheinlich ist.

Offenbar ist z. B. eine begrenzte Menge Silbernitrat nicht ins Unendliche teilbar. So wird das Silber eher, als sich ungleich zu verteilen, sich spalten, und wenn die Moleküle genügend voneinander entfernt sind, daß die Anziehungskraft, die sie untereinander vereint, abgeschwächt ist, so entsteht eine Veränderung der Materie und eine Verwandlung in elektrische Kräfte oder Elektronen.

Um diese Hypothese durch direkte Experimente wahrscheinlich zu machen, bin ich folgendermaßen vorgegangen:

In große Gefäße, die 20 l destillierten Wassers enthielten, tat ich eine gewisse Menge Silbernitrat, z. B. 0,0085 g. Diese Menge ist in der Lösung bei dieser Verdünnung gar nicht zu bestimmen, und keine Reagenz ermöglicht, das Silber unter diesen Bedingungen nachzuweisen. Das Wasser mußte verdunstet werden, und diese Einengung ließ ich in einer großen Glasschale vor sich gehen, aus der mehr als 1 l pro Stunde verdampfen konnte.

Der Rest wurde auf 1 l eingeengt und mit einer größeren Menge von Salpetersäure versetzt, um eine Reduktion

des Silbers zu verhüten, und schließlich in einer Schale mit flachem Boden auf ca. 15 cm konzentriert. Dann wurde das Silber nach den üblichen Methoden bestimmt.

Dabei stellte sich bei allen derartigen Experimenten heraus, daß das Silber verschwunden zu sein schien.

Da aber die Art der Bestimmung durch Titration einigen Ungenauigkeiten unterworfen ist, so bat ich Mr. Hanriot, den technischen Direktor der Münze, für mich die gewichtsanalytische Bestimmung des Silbers als AgCl vornehmen zu wollen. Folgendes waren die Resultate dieser Bestimmungen:

	Ag angewandt in mg	Ag wiedergefunden in mg	Absolut. Verlust an Silber in mg	Silberverlust in Prozenten
ohne Verdünnung	5,4	5,1	0,3	5,6
ohne Verdünnung	5,5	5,0	0,4	7,4
in 20 Litern				
1. sofort eingeengt	5,4	3,3	2,1	39
2. nach 24 Stunden eingeengt	5,4	1,3	4,1	76
3. nach 2 Tagen eingeengt	5,4	1,6	3,8	70
4. nach 4 Tagen eingeengt	5,4	3,3	2,1	21
5. nach 6 Tagen eingeengt	5,4	4.5	0,9	17
6. nach 10 Tagen eingeengt	5,4	4,1	1,3	24

Man kann nicht ganz sicher daraus den Schluß ziehen, daß das Silber verschwunden ist, und das aus verschiedenen Gründen. Ersteres, weil die Reihe von Manipulationen und Verdunstungen die Auflösung einer gewissen Menge von Kieselsäure und von Salzen mit sich gebracht hat, und weil die während der Einengung in die Schale gefallenen atmosphärischen Stäubchen eine nicht unbeträchtliche Menge fester Materie ausmachen, was die Bestimmung von so kleinen Silbermengen nach Hanriots Angaben äußerst unsicher werden läßt. Andererseits ist nach 6 Tagen die Menge des in 20 Litern vorgefundenen Silbers beträchtlich größer als nach 24 Stunden, was offenbar der Hypothese eine allmähliche Umwandlung des Silberatoms in Elektronen widerspricht. Bevor wir aussprechen dürfen, daß die Materie bei außerordentlicher Verdünnung als

solche verschwindet und zu Elektronen wird, bedarf es absolut positiver Erfahrungen.

Immerhin hat mir ein anderer Versuch, der etwas abweichend vorgenommen wurde, ein sehr merkwürdiges Resultat ergeben, so daß ich glaube, behaupten zu dürfen, daß wirklich ein Verschwinden der Materie erfolgt, wenn die Verdünnung sehr groß ist.

In 60 l destillierten Wassers wurden 0,01513 g Silber gebracht. Anstatt sie aber gleichzeitig in diese 60 l zu tun, fügte ich sie nach und nach während 21 Tagen hinzu, d. h. also 0,00072 pro Tag, in einer sehr schwachen Konzentration, die 0,00001 pro Liter entspricht. Nach Verdunstung der 60 l wurde wieder auf das Silber gefahndet, wobei nur noch 0,005 g vorgefunden wurden. Folglich ist eine Silbermenge von 0,01013 g verschwunden. Denn es ist kaum anzunehmen, daß bei einer sorgfältigen chemischen Analyse solch ein Silberverlust von 0,01013 g, d. h. 67 $^0/_0$ der hinzugefügten Menge, möglich ist.

Auf jeden Fall ist der Versuch, wenn auch das Experiment nicht als definitiv angesehen werden kann, doch sehr ermutigend, und ich hoffe, in absehbarer Zeit trotz der großen Schwierigkeiten, die sich einer einwandfreien Analyse entgegenstellen, andere Zahlen anführen zu können, die in diesem oder jenem Sinne zu einem definitiven Abschluß führen.

Über die Wirkung der schwachen Dosen in der Physiologie im allgemeinen.

Welches Los auch unsrer Hypothese über die Umwandlung der materiellen Moleküle unter Einfluß äußerster Verdünnung beschieden sei, das bleibt doch deshalb nicht weniger fest bestehen, daß unglaublich schwache Dosen eine offenbare Wirkung ausüben. Das kann in keiner Weise bezweifelt werden.

Von Experimenten, die sich auf Vanadinoxychlorid erstrecken, sind 28 versuchsweise gemacht worden, wovon jede Serie die Durchschnittsziffer von 5 Bestimmungen aufweist und sich jede Dosierung auf 500 ccm Milch bezog. Folglich repräsentieren diese 28 Serien 140 Dosierungen und 70 l Milch. Wie bei den Kontrollversuchen umfaßt die Dosierung gleiche Mengen. In Wirklichkeit sind es 280 Bestimmungen und 140 l Milch.

Die Resultate waren von außerordentlicher Deutlichkeit. Die Verdünnung betrug φ^8, φ^9, φ^{10}; d. h. auf 1 Liter Milch kamen 0,00000001 g bis 0,0000000001 g Vanadin. 24 mal war die Säure in den Milchproben mit Vanadin stärker, 3 mal war sie sich gleich und 1 mal war sie in der Kontrollprobe stärker.

Wenn man sich vorstellen will, wie viel Dosis φ^{10} bedeutet, genügt es, wenn ich sage, daß man bei einer Totalmenge von 0,2 g φ^{10} (im Liter) unter alle Menschen auf der Erdoberfläche verteilen könnte.

In der allgemeinen Physiologie aber sind diese schwachen Dosen in vielen Fällen bestimmt sehr wirksam. Die berühmten Experimente von Raulin bewiesen, daß minimale Silbermengen das Wachstum von Aspergillus niger beeinflussen. Berthelot hat gezeigt, daß 1 g Jodoform pro Stunde nur ein Billionstel seines Gewichtes einbüßt, und trotzdem riecht es sehr stark. Nach Ewert (Zeitschr. für Pflanzenkrankheiten **14**, 134 bis 138, 1904) verlangsamt eine Dosis von 0,0000005 Kupfersulfat merklich die Wirkung der Diastase auf Stärke. Das Gewicht eines Bacillus ist kleiner als 0,0000000001 g. Engelmann hat noch kleinere Mengen von Sauerstoff chemotactisch die Wirksamkeit gewisser Infusorien beschleunigen sehen. Die Menge der wirksamen chemischen Substanz, die sich in einem Spermatozoon befindet, ist vielleicht nur $^1/_{100}$ seines Gesamtgewichts. Und eine Zelle vom Gewicht eines Millionsten eines Milligramms kann ein lebendes Wesen hervorbringen. Welches sind die chemischen Reaktionen, denen das intellektuelle Vorgehen der roten Ameisen entspricht? Sicherlich sind die Veränderungen, die sich im Zellinnern abspielen, wenn das Tier zur Bewegung angetrieben wird, von einer Größe oder vielmehr einer Winzigkeit, die uns verwirren würden, kennten wir sie.

Man muß daran denken, daß die Quantitäten, die wir in unsern Experimenten anwenden, vielfach zu groß sind. Vielleicht findet man mit viel schwächeren Dosen ganz andere Eigenschaften an der Materie, ganz verschieden von denen, die man ihr bis jetzt beigelegt hat.

Der Einfluß der Nahrung auf die chemische Zusammensetzung des Tierkörpers.[1])

Von

Lafayette B. Mendel.

(Aus dem Sheffield Laboratory of Physiological Chemistry, Yale University in New Haven, U. S. A.)

Bei den während der letzten Jahre angewandten Methoden der Prüfung der Ernährung von Tieren war die statistische Feststellung der Einnahme und Ausscheidung vorherrschend. Die bei erhaltenen Daten gaben wertvolle Aufschlüsse betreffs des jeweiligen Körpergleichgewichts.

Es bedarf aber großer Vorsicht bei irgendwelchen Schlüssen bezüglich der dauernden Wirkungen der diätetischen Beeinflussung des Organismus. Eine Stickstoffretention während einer kurzen Zeit bedingt keineswegs eine beständige Veränderung in der chemischen Zusammensetzung der Gewebe, und es ist augenblicklich ganz unmöglich, ein vollständiges Bild von der Umwandlung der Körperkomponenten aus den Daten zu geben, die uns nach den eben angeführten Vergleichsmethoden zur Verfügung stehen.

Es ist deshalb nicht auffallend, daß noch auf anderem Wege das Ernährungsproblem in Angriff genommen worden ist.

Wie weit kann der wesentliche chemische Aufbau eines Organismus durch Nahrungsveränderungen oder abweichende Ernährungsbedingungen umgewandelt werden? Die Lösung dieser

---

[1]) Diese Arbeit ist eine aus einer Reihe von chemischen Versuchen über das Wachstum, die mit Bewilligung des Carnegie-Instituts in Washington ausgeführt wurde. Die Versuche wurden im Jahre 1905 bis 1906 unter Mitarbeit der Herren P. H. Mitchell und C. S. Leavenworth begonnen, welche die meisten analytischen Arbeiten ausgeführt haben.

Frage ist von hervorragender Bedeutung und ist für eine große Reihe biologischer Betrachtungen wichtig. Wenn Veränderungen in der Eiweißaufnahme, z. B. die Anwendung von Weizenproteinen an Stelle von Fleischproteinen, den Aufbau des Blutes oder der Muskelproteine merkbar beeinflussen, ist die Gelegenheit zugleich für Veränderungen in den Eigentümlichkeiten der Arten gegeben.

Verschiedene Physiologen haben sich kürzlich mit dieser Frage befaßt. So haben Abderhalden und Samuely[1]) gezeigt, daß die Serumproteine anscheinend eine konstante chemische Zusammensetzung haben, unabhängig von dem Charakter der zugeführten Eiweiße. Dies trifft auch dann zu, wenn die letzteren in dem quantitativen Verhältnis ihrer Aminosäuremengen bedeutend abweichen. Große Quantitäten von verabreichtem Gliadins, das über 36 $^0/_0$ Glutaminsäure enthält, veränderten nicht einmal den Gehalt der Serumproteine daran, die ungefähr 8 $^0/_0$ ergaben, unter Bedingungen, wo eine Synthese von Blutproteinen praktisch unvermeidlich war.

In ähnlicher Weise hat man schon gezeigt, daß der Eiweißaufbau im Pflanzenreiche unabhängig von dem Charakter der zugeführten Stickstoffnahrungsmenge ist, da das analysierte Produkt stets typisch in bezug auf seine chemische Zusammensetzung ist.[2]) Selbst unter ungewöhnlichen physiologischen Bedingungen, wie sie bei Tieren mit Eckscher Fistel bestehen, ist es unmöglich gewesen, irgend einen spezifischen Einfluß der Nahrungsproteine auf das Eiweiß des Plasmas zu entdecken.[3])

Ernährungsbedingungen, bei denen charakteristische Aminosäuremengen deutlich fehlen, wie in der Zusammensetzung von Gelatine (Mangel an Tyrosin, Cystin und der Tryptophangruppe) oder Zein (Mangel an Tryptophan und Lysin) führen bei dieser ungewöhnlichen Zusammensetzung der Stickstoffnahrung unvermeidlich zu pathologischen Zuständen und zum Tode. Der

---

[1]) Abderhalden u. Samuely, Zeitschr. f. physiol. Chem. 46, 193, 1905.

[2]) Abderhalden u. Rona, Zeitschr. f. physiol. Chem. 46, 179, 1905.

[3]) Abderhalden, Funk u. London, Zeitschr. f. physiol. Chem. 51, 269, 1907.

Organismus ist augenscheinlich nicht imstande, sein eigentümliches Protein zu synthetisieren, um das im Stoffwechsel verbrauchte zu ersetzen. Aber ob die zurückbleibenden Gewebe dadurch außer den Veränderungen an Wasser-, Fett- oder Glykogengehalt eine chemische Veränderung erfahren, muß experimentell bewiesen werden.

Daß typische chemische Veränderungen im Aufbau während der Wachstumsperiode bei Tieren möglich sind, ist wiederholt gezeigt worden. Als Beweis dafür kann man die Synthese der Purin- und Pentosegruppen ansehen, die erst kürzlich wieder für das sich entwickelnde Ei[1]) nachgewiesen wurde. Man hat den Veränderungen in den individuellen Organen verschiedentlich Aufmerksamkeit geschenkt. Es treten oft ausgleichende Faktoren hervor, so daß entscheidende Schlüsse nur aus einer Betrachtung des Organismus im ganzen gezogen werden können. Daher unternahmen die früheren Forscher es nur, einige der mehr hervorstechenden Eigenschaften, die man den Nahrungselementen zuschreibt, zu bestimmen.

Bei schlechter Ernährung wird der ganze Körper wässeriger; ein wohlgenährter Organismus enthält dagegen mehr Trockensubstanz, da in ihm mehr Fettgewebe mit geringem Wassergehalt ist, und auch die übrigen Organe die Muskeln usw. weniger Wasser einschließen[2]). Wenn, wie Voit lehrte, Wasser und Fett im umgekehrten Verhältnis zueinander im Organismus stehen, so daß der Wassergehalt praktisch von dem Fettreichtum der Gewebe abhängig ist, so könnte man annehmen, daß das fettfrei berechnete Gewebe eine merkliche Beständigkeit im Wassergehalt zeigte. Dies ist aber keineswegs von allen späteren Forschern bestätigt.[3]) Man stimmt im allgemeinen darin überein, daß der Wasserhalt bei Tieren von ihrem Alter und ihrer Ernährungsweise abhängt, da junge und im Wachsen begriffene Wesen reicher an Wasser sind als erwachsene. Der Charakter der Veränderungen bei den letzteren ist noch nicht unzweifelhaft festgesetzt worden. Weigert schloß

---

[1]) Vgl. Mendel u. Leavenworth, American Journal of Physiology 21, 77. 1908.

[2]) Voit, Hermanns Handbuch der Physiologie 6 (1), 347, 1881.

[3]) Vgl. Weigert, Jahrb. f. Kinderheilk. 61, 178, 1905, wo die Literatur durchgesehen ist; auch Steinitz, ibid. 59, 447, 1904.

aus einer Durchsicht der Literatur und eigener Untersuchungen über die Zusammensetzung einiger Tiere, die bei sehr verschiedener Diät gehalten wurden, folgendes: „Die Schwankungen des Wassergehalts sind nicht allein bedingt durch die Zunahme oder Abnahme des Fettgehaltes des Tierkörpers, sie sind auch begründet in einem verschieden großen Gehalt an fettfreier Trockensubstanz.“[1])

Die Bedeutung des Wassergehalts steht beim lebenden Protoplasma für seine richtige Funktion außer Zweifel. Als eine möglicherweise bedeutsame Folge von solchen Veränderungen werden Eigenschaften wie ein veränderter Widerstand gegen Infektionen angesehen, und diese Beziehung ist wiederholt hervorgehoben worden. Es schien daher wichtig, weitere und eindeutigere Punkte in dieser Frage festzustellen. Hierbei wurde noch der Versuch gemacht, den Einfluß einer fortgesetzten Nahrung von ganz verschiedenen Eigenschaften auf die dauernde Körperzusammensetzung festzustellen und zu bestimmen, ob eine einseitige Ernährung irgendwelche tiefere wahrnehmbare chemische Veränderungen hervorrufen kann. Wenn man eine Veränderung im Fettgehalt, an Glykogen, anorganischen Salzen und Wasser zuläßt, muß man prüfen, ob die Gewebsgrundsubstanz eine konstante Zusammensetzung beibehält, wie es z. B. durch einen unveränderten Stickstoffgehalt angezeigt wird. Wenn diese Unveränderlichkeit sicher festgestellt sein sollte, sind wir berechtigt, anzunehmen, daß, wenn ein Gewebe richtig wächst, alle spezifisch chemischen Eigenschaften des Aufbaues unvermeidlich beibehalten werden. Die Zellen sind bereichert oder vermindert (wenigstens soweit, wie die Stickstoffbestandteile betroffen sind) durch Hinzufügung oder Zersetzung einer typischen Körperkomponente, mehr als heterogene Bestandteile von wechselnder chemischer Zusammensetzung. Wenn der grobe chemische Aufbau des Körpers (neben seinem Fettgehalt) unverändert bleibt, sind die Folgen des Fehlens eines solchen normalen Nahrungsmechanismus um so beachtenswerter.

---

[1]) Weigert, loc. cit. 195.

Angewandte Methoden.

Bei dem Versuch, die Veränderungen in dem ganzen Organismus, der recht verschiedenen Ernährungsarten unterworfen war, feststellen, war es aus gewissen Gründen vorteilhaft, mit kleinen Tieren zu experimentieren. Es konnte eine große Anzahl von Individuen leichter beobachtet werden, und die Möglichkeit, den ganzen Körper zu analysieren, bot gewisse Vorteile. Es wurden weiße Mäuse für diesen Versuch gewählt, bevor der Mißerfolg Weigerts[1]), solche Tiere bei einer außergewöhnlichen Ernährungsweise zu erhalten, zu unserer Kenntnis gekommen war. Wir fanden gleich ihm, daß die Mäuse außerordentlich empfindlich für gewisse Nahrungsstoffe waren; wir bekamen erst eine größere Erfahrung, die Tiere bei bestimmter Ernährung lebend und gesund zu erhalten, auf Kosten vieler vorhergegangener Fehlversuche. Falta und Noeggerath[2]) waren nicht imstande, Ratten mit Mischungen von isolierten Nahrungsstoffen längere Zeit am Leben zu halten, obgleich Röhmann[3]) mitgeteilt hat, daß es ihm gelungen sei, Mäuse bis in die zweite Generation mit Mischungen von Casein, Eiereiweiß, Vitellin, Fetten und organischen Salzen zu zu erhalten. Wir haben oft gefunden, daß nach einer längeren Fütterung mit derselben Nahrung, besonders mit „ungewogenen Mengen" wie Reis und Bananen, die Mäuse nur gesund erhalten werden konnten, wenn ihren täglichen Portionen wenigstens zeitweise kleine Mengen Fleisch oder andere Substanzen hinzugefügt wurden. Als Beweis der wiederholt angeführten Schwierigkeiten erwähnen wir nur den Tod vieler unserer Tiere nach längerer Fütterung mit präserviertem Stockfisch (als einer proteinreichen Nahrung), bevor man herausgefunden hatte, daß eine übermäßige Salzmenge in der Nahrung hieran schuld war. Es mag darauf hingewiesen werden, daß die außergewöhnliche Empfindlichkeit dieser kleinen Tiere gegen diätetische Einflüsse sie desto wertvoller für gewisse Studienzweige über Ernährung macht. Wenn frisches mageres Rindfleisch dem Stockfisch hinzugefügt wurde, gediehen die überlebenden Mäuse bei der ge-

---

[1]) Weigert, Jahrb. f. Kinderheilk. 61, 184, 1906.

[2]) Falta und Noeggerath, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 7, 313, 1906.

[3]) Röhmann, Allgemeine med. Central-Zeitg, 1903, Nr. 1.

wählten Nahrung. Vielleicht sind solche Faktoren, die das Gleichgewicht von säurebildenden und basenerzeugenden Elementen in der Nahrung beeinflussen, wie von Sherman und Sinclair[1]) kürzlich hervorgehoben wurde, hierbei wirksam.

Die Mäuse wurden in kleinen, speziell konstruierten Drahtkäfigen gehalten, wovon jeder eine Schicht reinen Sandes auf dem Boden und eine Menge Watte enthielt. Wasser und Nahrung wurden in getrennten Trögen eingeführt. Besondere Sorgfalt wurde darauf gelegt, daß die Käfige täglich gereinigt und frische Nahrungsmengen verabfolgt wurden. Die Tiere wurden in einem warmen Raume gehalten und von Zeit zu Zeit gewogen. Unterschiede in der Lebendigkeit der Mäuse, die bei verschiedenen Diätformen gehalten wurden, waren oft bald bemerkbar.

Man beabsichtigte mit den gewählten Diäten ein Beispiel von proteinreicher Nahrung (P) durchzuführen, in der geronnenes Eiereiweiß, frisches oder getrocknetes Rindfleisch verabfolgt wurde, ein Beispiel von fettreicher Nahrung (F), in der Eidotter, Speck, fetter Käse die Hauptbestandteile bildeten; einer Nahrung die wenig Protein und überwiegende Kohlehydrate (C) enthielt, zu welchem Zwecke Bananen, gekochter Reis, Zucker, Brot und Schiffszwieback besonders gewählt wurden (mit gelegentlicher Beigabe von Stückchen frischen Fleisches, wenn es nötig war), einer Nahrung, die viel Gelatine enthielt (G) neben der Kohlehydratnahrung und ein wenig Fleisch; und zum Vergleich, das Beispiel einer „normalen“ gemischten Nahrung (N), die alle diese Nahrungsstoffe enthielt.

Die Versuchstiere waren in ihrem Anfangsgewicht und Alter sehr verschieden und wurden zu ganz verschiedenen Zeiten auf die verschiedenen Diäten gesetzt. Gewisse zufällige äußere Faktoren wurden auf diese Weise gänzlich ausgeschlossen. Im allgemeinen gediehen die Mäuse bei der gemischten (normalen) Diät gut; die größte Sterblichkeit war bei der Gelatine- und bei der Bananenreisfütterung zu verzeichnen, bis ein wenig Fleisch gelegentlich der Nahrung zugefügt wurde. Diese Tiere nahmen nicht beständig an Gewicht zu und waren weit weniger lebhaft als die der Eiweiß- und Fettproteingruppen.

---

[1]) Sherman und Sinclair, Journ. of Biolog. Chem. **1907, 307.**

Einige der gestorbenen Tiere wurden analysiert; aber die daraus gezogenen Schlüsse werden extra behandelt werden. Die wesentlichen zu berichtenden Daten kamen bei Mäusen vor, die zur bestimmten Zeit mit Äther getötet waren. Alle Unterleibseingeweide, außer der Leber, wurden entfernt, das Tier schnell gewogen, die Leber dann extra gewogen und wieder in den Körper getan. Die ganze Masse (außer den oben erwähnten anderen Eingeweiden) wurde fein gemahlen und in einer sehr kleinen, besonders konstruierten Hackmaschine gemischt, die schnell fast quantitativ geleert werden konnte. Das Material wurde auf tarierte Bleifolie gebracht und zu einem konstanten Gewicht bei 105^{0} getrocknet. Der Wasserverlust wurde auf diese Weise bestimmt. Darauf wurde der Rückstand vermittels Äther in einem Soxhletapparat (mit einer Knorrschen Flasche und Hopkinschen Kondensator) ungefähr 10 Stunden extrahiert. Der Inhalt wurde dann von der Unterlage entfernt, so gut wie möglich zerkleinert und in dem Extraktionsapparat zurückgebracht. Die ganze Extraktionszeit betrug niemals weniger als 18 Stunden. Das zurückbleibende Gewebspulver wurde für Aschenanalysen und Stickstoffbestimmungen nach dem Kjeldahl-Gunningschen Verfahren benutzt.

Die Unvollkommenheiten der eben angegebenen Technik sind dem Schreiber wohl bekannt; die möglichen Ungenauigkeiten bei der Bestimmung des Wassers werden zum Teil durch die Trocknung der ganzen Körper ausgeglichen. Vorhergehende Versuche mit kleineren Proben der gemahlenen Gewebemasse zeigten keinen Vorteil gegen die obige Methode. Die Verwendung der ganzen getrockneten Körper zur Extraktion mit Äther bereitete das Material für eine gleichmäßigere Probeentnahme zu den notwendigen Stickstoffbestimmungen vor. Die Entfernung der ganzen Eingeweide schien unumgänglich, wenn grobe Irrtümer ausgeschlossen werden sollten, die aus den sehr verschiedenen Mengen von Nahrungsrückständen herrührten.

Mit der unvermeidlichen Begrenzung durch die Methodik sind die Ergebnisse in Tabellenform gebracht und in Gruppen nach den charakteristischen Nahrungsarten geordnet. Sie lohnen keiner detaillierten Betrachtung an dieser Stelle. Nur solche Daten sind aufgeführt, die ganze Reihen von Analysen enthalten. Die Daten sind nach Gruppen geordnet. Bei einigen war die

Dauer der speziellen Fütterung dieselbe und die Diäten ungleich; bei andern wurden Tiere desselben Wurfes verglichen; bei wieder andern bilden Tiere, die eine Gewichtszunahme zeigen, den Gegensatz zu Tieren, die eine Abnahme erfahren haben, und endlich wird eine Gruppe von Mäusen hinzugefügt, die, außer was die Nahrungsbedingungen anbetrifft, unklassifiziert sind.

Diskussion der Ergebnisse.

Trotz der großen Abweichungen, die der Gehalt an Wasser und Fett (Ätherextrakt) bei allen getöteten Mäusen aufweist, zeigen diese Bestandteile eine sehr konstante Beziehung, ganz im Einklang mit den von Rubner[1]) folgendermaßen formulierten Sätzen:

„Diese Tatsache, daß Fettreichtum und kleiner Wassergehalt, sowie Fettarmut und Wasserreichtum korrespondieren, gibt zu unrichtigen Deutungen der ursächlichen Beziehungen Anlaß. Der scheinbare Einfluß des Fettes auf den Wassergehalt ist nichts weiter als eine rechnerische Wirkung ..... Wenn in ein normales, fettarmes Gewebe Fett eingelagert wird, so muß, weil letztere Substanz wasserfrei ist, der prozentige Wassergehalt sinken, ohne daß der Organismus selbst auch nur die geringste Wassermenge verloren zu haben braucht. Wenn man also von den Beziehungen des Wassers zu den Organen eine richtige Vorstellung haben will, so lasse man bei Vergleich verschiedener Organismen hinsichtlich des Wassergehaltes jedesmal das Fett ganz außer Berechnung. Dann findet man eine ungemein nahe Übereinstimmung, z. B. der Zusammensetzung des Muskels verschiedenartiger Tiere. .... Das Eiweiß der Organe oder die lebende Substanz hat offenbar eine sehr gleichmäßige Zusammensetzung, was ihr Verhältnis zum Wasser anlangt."

Das konstante Verhältnis, das hier betont wird, wird durch eine Prüfung des Wassergehalts, der auf das fettfreie Gewebe bezogen ist, deutlicher gemacht. Die Stärke der Veränderung ist besonders klein (70 bis 74 % Wasser), wenn die Versuchsanordnung und die Methoden der Analysen in Betracht gezogen werden. Die Ergebnisse von Weigert, der einen Wasser-

---

[1]) Rubner, v. Leydens Handbuch der Ernährungstherapie, S. 52, 1903.

gehalt (für fettfreie Substanz berechnet) von 65 bis 80% in sieben Experimenten an Hunden bekam, können möglicherweise durch die Tatsache erklärt werden, daß einige der Tiere noch in der Wachstumsperiode waren, wo ganz verschiedene Bedingungen bekanntlich vorhanden sind. Tatsächlich hob der Autor selbst die unsichere Deutung seiner Versuche hervor, obgleich er nicht zögerte, aus ihnen den ziemlich eigenartigen Schluß zu ziehen, der oben schon erwähnt wurde. Von anderen Forschern erhaltene Resultate an wachsenden Tieren können hier nicht zum Vergleich herangezogen werden.

Der Gehalt an Körperfett in der Trockensubstanz der Tiere, die beständig einen großen Überschuß an Nahrungsfett erhalten hatten, war gleichmäßig hoch, obgleich höhere individuelle Daten in einigen der anderen Gruppen erhalten waren.[1])

Die Tiere dreier verschiedener Würfe, die im Laboratorium geboren waren, wurden mit verschiedenen Diätformen ernährt, wie die Tabelle zeigt. Bei jedem Wurf gediehen die „Kohlehydratmäuse" weniger gut, als die „Fettnahrungstiere", nach dem Körpergewicht zu urteilen. Wie schon erwähnt wurde, verloren die „Kohlehydratmäuse", die von Bananen, Reis und Zucker lebten, rasch an Gewicht, zeigten eine geringere Lebhaftigkeit und nahmen ab, bis ihrer Nahrung eine kleine Fleischzumischung beigefügt wurde. Auf diese Weise verlor die Maus C_{10} bedeutend an Gewicht und bei C_{12} und C_{11} wurde diese Abnahme in der Weise ausgeglichen, wie die Übersicht anzeigt. Trotzdem ist der Wassergehalt des fettfreien Gewebes bei ihnen ähnlich und der Stickstoffgehalt des fettfreien organischen Materials zeigt keine auffallende Abweichung von dem des „Normaldiättieres". Von einigen der Tiere, die während des Futterversuches starben, wurden Analysen vorgenommen.

In den meisten Fällen verloren die Mäuse infolge der schlechten Ernährung schnell an Gewicht. Der verminderte Fettgehalt ist auffallend (vgl. P_{14}, P_{15}, F_9, C_{15}). Trotzdem bleibt der Wassergehalt des fettfreien Gewebes innerhalb der Grenzen wie bei normalen Tieren.

---

[1]) Siehe die Analysen der Tiere, die in der Tabelle mit F bezeichnet sind, also die Mäuse mit einer reichlichen Fettnahrung.

Um eine direkte Basis für den Vergleich der Gewebesubstanz neben dem Wasser und Fett und dem anorganischer Gerüstsubstanz zu haben, wurde der Stickstoffgehalt der ganzen Tiere auf wasser-, fett- und aschefreies Material berechnet. Mit wenigen Ausnahmen zeigten die getöteten Tiere einen Gehalt innerhalb einer engen Grenze über oder unter 16 $^0/_0$ Stickstoff.[1] Wir neigen zu der Ansicht, hierin einen weiteren Beweis zu sehen, daß die tierischen Gewebe immer das Bestreben besitzen, eine konstante Zusammensetzung ihrer Proteine aufrecht zu erhalten, trotz großer Veränderungen in dem chemischen Charakter der zugeführten Stickstoffnahrung. Selbst bei Tieren, die anscheinend infolge von Nahrungsstörungen starben, blieb dieses Charakteristikum in den meisten Fällen bestehen.[2] Die Versuche zeigen keine Berechtigung zu der Annahme eines beträchtlichen Vorrats an nicht eiweißartigem Stickstoffmaterial, weder von stickstoffreichen noch (wie es wirklich bei manchen der hier in Betracht kommenden Aminosäuren der Fall ist) von stickstoffärmeren als Gewebseiweiß. Solche kleinere Veränderungen, wie sie oben erwähnt sind, können sehr gut mit Abweichungen im Glykogengehalt in Zusammenhang gebracht werden, die bei den Berechnungen nicht in Betracht gezogen sind, im Verein mit den unvermeidlichen Fehlern der benutzten Analysenmethoden.

Die Schlüsse, zu denen diese Arbeit, so unvollständig sie offenbar ist, führt, sind gut in einem andern Zusammenhang von Steinitz[3]) ausgedrückt worden: „Die Konstanz der Zusammensetzung des Organismus, die sich in meinen Analysen gezeigt hat, spricht nicht dafür, daß es auf rein alimentärem Wege möglich ist, den Körper, abgesehen vom Fett, irgend eines für seine Funktion wichtigen Bestandteiles zu berauben. Es scheint vielmehr sicher zu sein, daß der Organismus an

---

[1]) Einige deutliche Ausnahmen sind hervorgehoben.

[2]) Es ist bereits bemerkt worden, daß der Stickstoffgehalt bei einigen analysierten Tieren deutlich vermindert gefunden wurde. Es scheint unnötig, dies zu betonen, da solche Beobachtungen auf sehr wenige Fälle beschränkt waren. Die unvollständige Entfernung der ätherlöslichen Komponenten ist vermutlich an großen analytischen Verschiedenheiten in einigen oder allen diesen Fällen schuld gewesen.

[3]) Steinitz, Jahrb. f. Kinderheilk. 1904, 460.

Übersicht über die Analysen von Mäusen, die unter verschiedenen Nahrungsbedingungen gehalten waren.

Die Art der Nahrung ist durch folgende Buchstaben gekennzeichnet: N = normale gemischte Nahrung. P = eiweißreiche Nahrung. G = gelatinehaltige Nahrung. C = eiweißarme, kohlehydratreiche Nahrung. F = fettreiche Nahrung.

Bezeichnung der Tiere	Dauer des Ernährungsversuches Tage	Körpergewicht beim Tode g	Trockengewicht %	Wasser %	Ätherextrakt %	Wasser im fettfreien Gewebe %	Asche des fettfreien Trockenrückstandes %	Stickstoffgehalt der wasser-, fett- u. aschefreien Substanz %	Gewicht der Leber g	Bemerkungen über die Nahrung etc.
Beginn der Fütterung 30 Tage nach der Geburt:										
P 8	28	15,2	32,6	67,4	26,1	73,5	12,7	16,0	2,2	Fleisch, Eier, Brot.
F 6	28	19,4	36,3	63,7	33,1	72,4	12,3	15,3	1,8	Käse, Speck, Eigelb, fettes Fleisch.
C 11	28	15,0	36,0	64,0	33,6	72,8	11,2	16,1	1,6	Bananen, Reis, Zucker, ein wenig Brot und Fleisch.
Beginn der Fütterung 40 Tage nach der Geburt:										
P 9	127	18,7	35,3	64,7	30,1	71,8	14,5	16,8	1,4	Fleisch, Eier, Brot.
F 7	127	19,9	37,2	62,8	33,2	71,9	14,1	16,7	1,7	Käse, fettes Fleisch, Eigelb, Speck. Die Mäuse verlieren nach zwei Monaten den Appetit. Zugabe von Brot und Hafer. Die Tiere erholen sich.
C 12	127	16,6	36,2	63,8	33,6	72,6	10,5	16,0	0,9	Reis, Bananen, Zucker, wenig Brot und Fleisch.
Beginn der Fütterung 60 Tage nach der Geburt:										
N 8	39	20,5	34,3	65,7	19,1	70,4	13,7	16,0	1,9	
P 7	39	14,4	31,7	68,3	20,0	69,8	16,1	16,3	1,8	Fleisch, Eier und wenig Brot.
F 5	39	22,1	39,4	60,6	41,4	72,4	16,0	15,8	2,0	Käse, Eigelb, Speck, fettes Fleisch.
C 10	39	18,8	31,5	68,5	17,6	72,5	19,0	16,0	1,3	Reis, Bananen, Zucker. Die Mäuse verlieren beständig an Gewicht.
137 Tage künstliche Ernährung:										
P 4	137	15,6	37,7	62,3	34,6	73,1	—	—	1,9	
F 8	137	15,2	35,5	64,5	30,5	72,7	13,1	14,2	1,8	
C 9	137	17,0	41,0	59,0	47,8	73,4	16,1	15,8	0,9	Bananen, Zucker, Reis, sehr wenig Fleisch und Brot. Die Tiere werden krank, erholen sich aber bei Fleischnahrung.
G 2	137	18,3	33,0	67,0	39,1	76,9	14,0	15,1	1,8	Gemischte Nahrung und wenig Gelatine.

37 tägige künstliche Ernährung:

N 3	37	17,4	34,7	65,3	30,9	73,8	13,9	16,2	1,7	
P 3	37	20,2	38,2	61,8	37,1	72,1	10,7	16,1	2,3	Fleisch, Eier und wenig Brot.
F 4	37	20,8	36,4	63,6	33,4	72,9	12,7	16,3	1,9	Käse, Speck, Eigelb, fettes Fleisch.
C 6	37	19,7	34,1	65,9	29,4	73,1	13,8	15,7	2,1	Bananen, Zucker, Brot, Zwieback und Reis.
G 1	37	16,3	31,8	65,2	25,8	73,5	13,8	15,2	2,2	Nur wenig Gelatine als Nahrung.
					Mäuse, die an Gewicht zunahmen:					
N 4	—	24,4	40,8	59,2	45,1	73,0	12,5	16,4	1,4	
P 3	53	22,6	33,6	66,4	28,0	72,9	15,0	15,7	3,2	Reichlich Rindfleisch und Eier.
F 3	91	21,5	37,9	62,1	39,5	73,5	15,7	16,9	1,8	
C 7	37	15,0	35,0	65,0	37,2	74,7	12,9	15,5	1,6	Bananen, Zucker, Brot, Zwieback und Reis.
					Mäuse, die an Gewicht abnahmen.					
C 2	50	14,8	30,2	69,8	14,9	73,1	16,3	15,0	1,0	Reisflocken und Bananen. Starker Gewichtsverlust.
C 3	54	11,0	29,6	70,4	14,0	73,6	16,1	15,9	1,6	Reis, Bananen, wenig Zwieback. Starker Gewichtsverlust.
						Gemischte Gruppe:				
N 1	—	23,4	33,8	66,2	24,6	72,6	—	—	2,2	
N 5	—	17,7	39,9	60,1	42,8	72,5	14,1	16,6	1,1	
N 7	—	26,4	46,1	53,9	52,0	70,9	14,5	16,7	2,2	
P 1	28	21,1	32,2	67,8	21,6	72,9	13,1	16,3	1,7	Frisches Fleisch und Eiweiß.
P 2	58	22,6	33,6	66,4	28,0	72,9	15,0	15,7	3,2	Reichlich Rindfleisch und Eier.
P 6	73	21,8	39,3	60,7	37,0	71,0	11,7	16,8	1,8	Mageres rohes Fleisch, Eiweiß und wenig Brot.
F 2	91	24,4	37,6	62,4	39,9	73,3	15,7	15,9	2,0	Käse, fettes Fleisch und Speck.
C 4	54	15,2	31,8	68,7	22,7	73,9	16,3	15,6	2,1	Reis, Bananen und Zwieback.
C 5	65	11,4	32,8	67,2	27,9	74,0	13,8	16,7	1,5	„ „ „ „
C 8	137	20,2	41,0	59,0	45,8	72,7	—	—	1,1	Kohlehydratnahrung; die Tiere werden krank und erholen sich bei wenig Fleischkost.
						Gestorbene Mäuse:				
P 14	19	9,0	29,3	70,7	7,6	72,2	17,7	16,6	0,9	Fleisch und Eier.
P 15	28	—	27,1	72,9	7,7	73,9	15,9	15,5	—	Fleisch und Eier; Gichtsymptome.
F 9	43	15,8	30,3	69,7	7,3	71,4	22,4	16,4	—	Erschöpfung und Entkräftung.
C 15	54	8,8	28,8	71,2	14,8	74,4	16,2	15,4	1,0	Reis und Bananen.
					Sehr abweichende Analysenzahlen:					
N 6	—	18,2	40,2	59,8	40,5	71,4	13,1	14,8	1,8	
P 5	73	15,2	35,6	64,4	22,6	70,0	13,9	14,4	1,7	
F 8	137	15,2	35,5	64,5	30,5	72,7	13,1	14,2	1,9	
C 1	26	16,5	33,5	66,5	14,4	69,9	17,3	14,5	1,0	Reisflocken. Starker Gewichtsverlust.

seiner relativen Zusammensetzung festhält. Ein Manko in der Ernährung, zu geringe Zufuhr einer Nahrungskomponente, beantwortet er nicht mit Verarmung an dieser, während im übrigen Wachstum weiter stattfindet, sondern seine Zusammensetzung bleibt unverändert. Ein normales Wachstum kann nur erfolgen bei Assimilation aller wichtigen Bestandteile in dem Verhältnis, wie sein Körper zusammengesetzt ist, und einen Verlust erleidet er nur durch gleichmäßiges Einschmelzen von Gewebe, während seine relative Zusammensetzung unverändert bleibt."

Physikalisch-chemische Betrachtungen über die pharmakologische und toxische Wirkung von Quecksilber.

Von

L. Sabbatani.

(Aus dem pharmakologischen Institut der k. Universität Parma.)

Es existiert vielleicht kein Arzneimittel, dessen Verwendung schon seit uralten Zeit eine so häufige und mannigfaltige gewesen wäre, wie die des Quecksilbers, und kein anderes hat je Anlaß zu so vielen und genauen chemischen, pharmakologischen, therapeutischen, toxikologischen und anatomisch-pathologischen Untersuchungen gegeben.

Die Menge der mit Bezug auf die physikalischen, chemischen und biologischen Eigenschaften des Quecksilbers zusammengetragenen Fakta ist sehr groß und recht umfangreich und die Literatur ist fast endlos. Dennoch liegt bis jetzt, soviel wie ich weiß, noch keine Arbeit vor, die den Zweck verfolgt, eine Zusammenstellung aller wesentlichen sicher erwiesenen chemischen und biologischen, Tatsachen zu liefern. Es fehlt noch eine Betrachtung, die zu einer klaren Erkenntnis der chemischen als auch der biologischen Tatsachen führt und imstande ist, die in vitro und die beim lebenden Tier gemachten Beobachtungen, die therapeutische und toxische Wirkung, sowie die besonderen anatomischen Lokalisationen bei der Vergiftung durch Quecksilber zu erklären.

Seit einigen Jahren beschäftige ich mich mit pharmakologischen Untersuchungen über die Eigenschaften und Wirkungen des Quecksilbers. Dabei dienten stets die physikalisch-chemischen Gesetze der Lösungen zur Richtschnur; auf diese Weise habe ich viele Resultate erhalten, die es mir erlauben, die Abfassung der vorhin erwähnten synthetischen Arbeit, und

zwar, wie ich glaube, mit Erfolg zu versuchen. Wie mir scheint, können jetzt viele Erscheinungen miteinander in Zusammenhang gebracht werden, die man früher als gänzlich unabhängig voneinander betrachtete. Meines Erachtens läßt sich jetzt mit hinlänglicher Sicherheit eine physikalisch-chemische Lehre von der pharmakologischen und toxischen Wirkung des Quecksilbers formulieren; während sie uns eine gute Erklärung aller besonders wichtigen Erscheinungen gibt, welche in das Gebiet der Pharmakologie und der Toxikologie gehören, steht sie auch in Übereinstimmung mit unseren chemischen Kenntnissen bezüglich der Lösungen der Quecksilberverbindungen.

Antiseptische Wirkung.

Es ist schon etliche Jahre her, seit Krönig und Paul[1]) die strenge Abhängigkeit nachwiesen, die zwischen dem physikalisch-chemischen Zustande der Lösungen der Quecksilberpräparate und ihrer antiseptischen Wirksamkeit existiert, und vor allem die enge Beziehung, die zwischen der Konzentration der Quecksilberionen und der antiseptischen Kraft besteht. Noch heutzutage zweifelt, in Übereinstimmung mit diesen Autoren, niemand mehr daran, daß die toxische Wirkung auf die Mikroorganismen fast ausschließlich von den freien Ionen, dagegen wenig von den anderen zusammengesetzten Ionen des Quecksilbers abhängt; bewirken doch alle physikalischen oder chemischen Ursachen, die eine Zunahme der Konzentration der Quecksilberionen herbeiführen, ebenfalls eine Zunahme des antiseptischen Vermögens und alle eine Abnahme der Konzentration veranlassenden auch eine Abnahme des antiseptischen Vermögens.

Es schien jedoch, als ob die Beziehungen zwischen dem physikalisch-chemischen Zustand und der toxischen Wirkung nur für die Mikroorganismen beständen, oder als ob sie sich höchstens auf wenige sehr einfache Organismen erstrecken könnten. Obschon die Untersuchungen von Krönig und Paul vor 11 Jahren veröffentlicht wurden, hat meines Wissens niemand seit dieser Zeit versucht, die physikalisch-chemischen

[1]) Krönig und Paul, Die chemischen Grundlagen der Lehre von der Giftwirkung und Desinfektion. Zeitschr. f. Hygiene u. Infektion. 25, 1897.

Forschungen bei pharmakologischen Untersuchungen an höheren Tieren zu verwerten, und wenn auch die Beziehungen zwischen der elektrolytischen Dissoziation und der biologischen Wirkung hinsichtlich anderer Metalle, der Säuren und Basen einigermaßen verallgemeinert worden waren, so sah man sich doch immer bei solchen Untersuchungen auf einzellige oder sehr einfache Individuen[1]) beschränkt. Es hatte den Anschein, als ob die Erforschung der pharmakologischen Wirkung der Ionen bei den höheren Tieren keine leichte Aufgabe sein würde; dieser Ansicht war auch Maillard, der zu den ersten gehörte, die sich erfolgreich mit derartigen Untersuchungen beschäftigten.

Heutzutage jedoch liegt eine Reihe von Arbeiten über Versuche vor, die an höheren Tieren[2]) angestellt wurden; sie gestatten uns, auf dem ganzen Felde der biologischen Wirkungen des Quecksilbers die Anwendung der physikalisch-chemischen Gesetze seiner Lösungen allgemein durchzuführen.

Präcipitierende Wirkung bei der Albuminfixiation der Gewebe.

Nach den schönen Untersuchungen von Galeotti über die Fällung der Eiweißkörper in vitro mit Salzen von Schwermetallen ist kein Zweifel mehr möglich, daß die Erscheinung der Präcipitation in diesen Fällen direkt an den physikalisch-chemischen Zustand der Lösungen gebunden ist; ferner ergibt sich aus meinen Experimenten mit Ätzsublimat, daß

[1]) Bezüglich der Literatur vergleiche man die in meiner früheren Arbeiten über das Quecksilber angegebene; die betreffenden Arbeiten werden in dieser Abhandlung zitiert.

[2]) Sabbatani, L., La dissociazione elettrolitica e la tossicologia dell'argento, rame e mercurio. Arch. di Psich. Med. leg., ecc., 25, 1904.

Sabbatani, L., Dissociazione elettrolitica ed azione farmacologica dei sali doppi alogenati del mercurio. Arch. di Fisiologia, 8, 1903.

Sabbatani, L., L'acido solfidrico come antidoto generale del mercurio dal punto di vista fisico-chimico. Arch. internation. de Pharmacodyn. et de Thérapie, 3, 1907.

Sabbatani, L., Cura dell' avvelenamento acuto da mercurio, Rif. Med, 23, 1907.

Simon, J., Studio fisico-chimico dell'antidotismo fra albumine e cloruro mercurico. Communicazione fatta al Congresso della Società per il progresso delle Scienze in Parma, settembre 1907.

die Fällung von einem bestimmten kritischen Wert in der Konzentration der Quecksilberionen abhängt. Das gleiche läßt sich über die fixierende Wirkung des Sublimats auf die Gewebe sagen, die so oft in der Histologie verwertet wird.

Lokale Wirkung.

Was die lokale adstringierende und kaustische Wirkung der Quecksilberpräparate betrifft, so hängt sie unzweifelhaft wie die Fällung der Eiweißkörper in vitro von den Kationen ab; die von mir in dieser Hinsicht gemachten Experimente sind sehr überzeugend.

Allgemeine Wirkung.

Die allgemeine akute toxische Wirkung des Quecksilbers bei den Säugetieren hängt gleichfalls vom Quecksilberion ab und ist enge an die Bedingungen der Dissociabilität gebunden, die es in den zirkulierenden Flüssigkeiten und in den Protoplasmen antrifft. Die tödliche Dosis hängt durchaus nicht von einer bestimmten Menge Quecksilber ab, sondern von einer bestimmten Konzentration seiner Ionen, wie bei der antiseptischen Wirkung, wie bei der präzipitierenden Wirkung auf die Eiweißkörper in vitro und wie bei der adstringierenden und lokalen kaustischen Wirkung auf die Gewebe.

Die Giftigkeit des in die Venen injizierten Ätzsublimats nimmt ab, und die minimalste tödliche Dosis wird bedeutend größer, wenn man bewirkt, daß die elektrolytische Dissoziation des zirkulierenden Quecksilbers eine geringe bleibt; sie nimmt um so mehr ab, je kleiner die Konzentration der Ionen wird. Injiziert man vorher in die Venen der Tiere Natriumchlorid, das bei der Gleichheit des Anions mit dem Quecksilberchlorid seine Dissoziation zurückdrängt, so werden sie gegen intravenöse Injektionen von Ätzsublimat widerstandsfähiger; injiziert man vorher Natriumbromid, so wird die Toleranz viel größer, weil das Quecksilberbromid (das sich im Organismus bildet) weniger dissoziiert ist als die Chlorverbindung; injiziert man vorher Jodnatrium, so wächst die Widerstandsfähigkeit der Tiere gegen das Sublimat noch mehr, weil die Tendenz vorhanden ist, Jodquecksilber zu bilden, nach dessen Entstehung das Quecksilber noch weniger dissoziirt ist.

Ferner wird nach vorhergegangener Injektion von Natriumthiosulfat die Toleranz der Tiere sehr groß, weil das Quecksilber die Tendenz hat, als Doppelsalz ein Gesamtion zu bilden: Quecksilberthiosulfat plus Natriumchlorid. Die Resistenz kann ebenfalls sehr groß werden, wenn man Schwefelwasserstoff verwendet, der Quecksilbersulfid bildet, die am wenigstens dissoziierte Quecksilberverbindung, welche man kennt; hier wird aber das Experiment wegen der dem Schwefelwasserstoff eigenen Toxicität schwierig.

Zusammenstellung der an Kaninchen mit Gegengiften gegen Quecksilber gemachten Versuche.

Intravenöse Injektion von $HgCl^2$ in g pro Kilogewicht	Gegengift		Unmittelbare Folge bei den Tieren
	Substanz	Art der Verwendung	
0,000092	—	—	stirbt
0,000147	NaCl	vorausgehende intravenöse Injektion gleich g 0,026000 pro Kilo	„
0,000185	NaBr	„	„
0,000316	NaJ	„	„
0,001090	H_2S	gleichzeitige oder abwechselnde intravenöse Injektion gleich g 0,001090 pro Kilo	lebt
0,001083	H_2S	pro 0,001083	stirbt
0,000740	Na_2S	pro 0,000830	lebt
0,000649	Na_2S	pro 0,000649	„
0,001600	$Na_2S_2O_3$	vorausgehende intravenöse Injektion gleich g 0,026000 pro Kilo	stirbt

Mit diesen Reagenzien kann man also eine Präventivbehandlung durchführen, gewissermaßen die Tiere gegen die toxische Wirkung der intravenösen Injektionen von Sublimat schützen; aber man kann eine direkte Behandlung der tat-

sächlichen Vergiftung vornehmen, eine Kur, die nicht symptomatisch, sondern hinsichtlich des wahren toxischen Erregers, des Quecksilberions pathogenetisch wird. Diese Kur gelingt um so besser, je unschädlicher an und für sich das verwendete antitoxische Agens, und je weniger aktiv das sich bildende Gesamtanion des Quecksilbers ist. Das vom Thiosulfat herstammende ist das am wenigsten schädliche von allen; unter denjenigen, welche sich mit den Halogensalzen des Quecksilbers bilden:

$$HgCl_4'' \quad HgBr_4'' \quad HgJ_4'',$$

ist das schädlichste von allen das dritte, dasjenige, welches sich aus alkalischen Jodquecksilberverbindungen bildet. Zu bedenken ist jedoch, daß man mit diesen chemischen Agenzien eine lokale und allgemeine, durch Ätzsublimat verursachte Erscheinung zum Stillstand bringen und bekämpfen kann, aber nicht ihre anatomischen Folgen; ferner beachte man, daß, um vom praktischen Gesichtspunkte aus diese Mittel mit Nutzen zu verwenden, besondere Vorsichtsmaßregeln nötig sind, die ich schon in einer der oben angeführten Arbeiten angegeben habe.

Wirkung der verschiedenen Quecksilberpräparate.

Was die allgemeine Wirkung der verschiedenen Quecksilberpräparate betrifft, so ist zu bemerken, daß sie nur dann nützen, wenn sie sich zu trennbarem Salz, wahrscheinlich Mercurisalze, umbilden im Verhältnis zu den Mercuriionen, die sie direkt oder indirekt in den Kreislauf bringen. Ihre Endwirkung ist stets die gleiche, wie dies die klinische Erfahrung schon längst erkannt hat. Dies hatte zu dem Glauben geführt, das eingeführte Quecksilberpräparat, ganz gleich welches, zirkuliere dann im Organismus unter einer einzigen Form, nämlich als Quecksilberoxyd-Albuminat, und diesem Präparat allein sei in jedem Falle den Eintritt der allgemeinen, pharmakologischen, therapeutischen und toxischen Wirkungen zuzuschreiben.

Wollte man jedoch heutzutage die einzige chemische Form der Quecksilberverbindung genau bestimmen, die immer im Organismus zirkulieren sollte, so wäre dies, wenigstens vom theoretischen Gesichtspunkte aus, absurd, da die vom Quecksilber im Organismus gebildeten Verbindungen sehr zahlreich,

ja zahllos sein können. Nur das ist sehr wahrscheinlich, daß die vorwiegende mineralische Form, die das Quecksilber annimmt, die des Quecksilberchlorids ist. Und zwar folgert man dies aus der Stabilität der Halogenverbindungen des Quecksilbers, aus dem bedeutenden Überwiegen der Chloride über alle anderen löslichen Salze des Organismus, aus dem Gesetz der Massenwirkung aus den Beobachtungen von Buglia bezüglich der antikoagulierenden Wirkung der Kationen auf das Blut[1]) und zum Teil auch aus meinen Untersuchungen über die Gegengifte.

Heutzutage müssen wir, statt zu sagen, das aktive im Organismus zirkulierende Quecksilber sei stets in einer einzigen Form einer chemischen Verbindung vorhanden, vielmehr uns so ausdrücken; es findet sich stets in einer konstanten, physikalisch-chemischen Form, der des Ions. Durch diese Auffassung lassen sich leicht und vollständig alle Erscheinungen erklären, welche die lokale und allgemeine pharmakologische Wirkung der verschiedenen Quecksilberpräparate betreffen, sowie die toxische Wirkung und die vorhin erwähnten Untersuchungen über die Gegengifte.

Die verschiedenen Quecksilberpräparate zeigen in ihrer Wirkung Verschiedenheiten hauptsächlich hinsichtlich der lokalen Wirkung oder der Geschwindigkeit, mit der sie resorbiert werden, sowie der Leichtigkeit, mit der sich aus ihnen Mercuriionen entwickeln können.

Was sodann die Art und Weise betrifft, wie die letzteren dem Protoplasma gegenüber aktiv werden, so glaube ich, daß sie von Reaktionen der Ionen abhängig ist, die sie mit einigen Bestandteilen des Protoplasma selbst bilden können. Meines Erachtens ist die toxische Erscheinung eine direkte Folge von bestimmten Verbindungen der Ionen und Eiweißkörper, wie Loeb sagt; er faßt sie jedoch im Sinne von Galeotti auf, d. h. als labile Verbindungen von verschiedener Zusammensetzung und als reversibel; ihre chemische Zusammensetzung

---

[1]) Buglia, G., (Azione anticoagulante dei cationi in rapporto alla diluzione del sangue. Arch. di Fisiologia Vol. 3, 1906) konnte in der Tat indirekt konstatieren, einen wie starken Einfluß die vorher im Blute vorhandenen Chloride auf den physikalisch-chemischen Zustand des dem Blute hinzugefügten Quecksilberchlorids ausüben.

hängt von der physikalisch-chemischen Zusammensetzung der umgebenden Lösung ab, die mit ihr in Berührung ist, nach dem thermodynamischen Gesetz der chemischen Gleichgewichte. Danach werden wir annehmen können, daß in den Protoplasmen der durch Quecksilber vergifteten Tiere neben den Verbindungen der Ionen und Eiweißkörper sich stets Metall im Zustand eines freien Ions findet in einem besonderen Gleichgewichtszustande mit jenem, und daß, wenn die Konzentration des Ions schwankt, auch die Menge und die Zusammensetzung des Metalls schwanken muß. Danach würde man es also verstehen, daß die oben erwähnten Verbindungen, welche Vergiftungserscheinungen und den Tod zur Folge haben, sich nur bei bestimmten Konzentrationen der Ionen bilden (toxische Dosis, tödliche Dosis); daß die Vergiftungserscheinung konstant fortdauert, solange die Konzentration des toxischen Ions konstant die gleiche bleibt, daß sie mit der Abnahme der letzteren wächst und abnimmt und verschwindet, wenn die Konzentration der Quecksilberionen unter einen kritischen Wert hinabsinkt, bei dem die Verbindungen der Ionen und Eiweißkörper, welche die Ursache der Vergiftungserscheinungen waren, zurücktreten und verschwinden.

Anatomische Lokalisationen bei Vergiftung durch Quecksilber.

Auf den ersten Blick scheint es schwer, nach der soeben dargelegten physikalisch-chemischen Theorie auch die ganz eigentümlichen anatomisch-pathologischen Lokalisationen zu erklären, die bei der Vergiftung durch Quecksilber beim Menschen und bei den höheren Tieren angetroffen werden; gerade diesen Teil gedenke ich jetzt zum erstenmal zur Ergänzung der vorgetragenen Anschauungen zu entwickeln.

Um die Stomatitis, Colitis und Nephritis zu erklären, hat man viele Hypothesen aufgestellt und daran viele Erörterungen geknüpft. Die einschlägige sehr umfangreiche Literatur findet sich zusammengestellt in zwei Arbeiten von Elbe und Almkvist, mit denen wir uns gleich beschäftigen müssen. Deshalb halte ich es für vollkommen überflüssig, das hier zu wiederholen, was diese Autoren schon sehr gut dargelegt haben; ich will hier nur die verschiedenen Hypothesen zusammenstellen, die sich auf acht beschränken lassen.

a) Eine erste Hypothese nimmt an, daß eine direkte Reizung und ein darauffolgender primärer Entzündungsprozeß der Teile stattfinde, zu denen das Quecksilber gelangt.

b) Nach einer anderen Hypothese soll das Quecksilber die Reizung gerade in dem Augenblicke verursachen, wenn es ausgeschieden wird.

c) Eine dritte Hypothese von Meyer und Steinfeld nimmt an, daß die Wirkung des Quecksilbers im Verdauungskanal „als Symptom der gestörten Ausscheidung" zu betrachten sei.

d) Eine vierte Hypothese von Grawitz behauptet, die Läsionen des Darmrohrs seien durch eine krampfartige Zusammenziehung der Muskeltunica sowie eine durch das Quecksilber verursachte starke Hyperämie zu erklären.

e) Eine fünfte Hypothese meint, eine Abnahme des Blutdruckes könne das Auftreten der anatomischen Läsionen wenigstens begünstigen.

f) Eine sechste Hypothese erklärt die Entstehung der Läsionen durch eine lokale Änderung der Ernährung, die von Gerinnung des Blutes in den Capillaren herrühre.

g) Eine siebente Hypothese, die Elbe aufgestellt hat, führt die durch Quecksilber hervorgerufene Colitis und Nephritis auf eine Reizung der vasomotorischen Nerven der Niere und des Darmrohrs zurück, die eine Verengerung der Gefäße mit darauf folgender Nekrose verursachen soll.

h) Endlich erklärt eine achte Hypothese von Almkvist die Colitis und Stomatitis durch Bildung von Schwefelquecksilber.

Auch bei einer einfachen Aufzählung dieser Hypothesen empfindet man gleich, wie unvollständig, unsicher und unbegründet die meisten von ihnen sind, weil sie nicht alle die Lokalisationen der Vergiftung in Erwägung ziehen, weil einige von ihnen sich fast ausschließlich auf anatomische Befunde stützen, und weil sie fast immer das chemische pathogenetische Element und die physiologischen Fragen unberücksichtigt lassen. Deshalb halte ich es nicht für der Mühe wert, sie alle einzeln zu erörtern, um so mehr, da dies schon zum großen Teil durch Elbe und Almkvist geschehen ist.

Bei allen diesen Hypothesen zeigt sich ganz klar und deutlich eine sehr enge Beziehung zwischen den Ausscheidungswegen

(Speichel, Mucosa des Darmrohrs, Nieren) und den anatomischen Lokalisationen der Vergiftung durch Quecksilber. Diese Beziehung war der scharfsinnigen Beobachtung Schmiedebergs nicht entgangen und wurde durch einige Experimente Elbes direkt nachgewiesen. Dieser Autor beobachtete, daß, wenn man einen Harnleiter unterbindet und dann das Tier durch Quecksilber vergiftet, die Veränderungen der Niere fast ausschließlich an der normalen Niere erscheinen.[1])

Wenn wir jedoch diese Beziehung zwischen Ausscheidungswegen und anatomischen Lokalisationen annehmen, so geben wir a priori zu, daß das Quecksilber sich hier in einem physikalisch-chemischen Zustande befindet, der imstande ist, so schwere toxische Veränderungen zu verursachen, daß alsdann die wohlbekannten anatomischen Läsionen die Folge sind. Wir geben dies zu, ohne untersucht zu haben, ob wirklich an diesen Stellen besondere chemische und physikalische Bedingungen vorhanden sind, welche die erheblichen toxischen Wirkungen des Quecksilbers rechtfertigen können. Um so interessanter erscheint es dann, diese Seite der Frage zu untersuchen, da nach allem, was wir bis jetzt dargelegt haben, es nunmehr ganz sicher ist, daß zur Hervorbringung irgendeiner beliebigen Wirkung des Quecksilbers die Anwesenheit einer Quecksilberverbindung nicht genügt, sondern es erforderlich ist, daß sie eine bestimmte Ionenform und eine bestimmte Konzentration annehmen kann. Dies führt uns zu der Annahme, daß das Quecksilber an den obenerwähnten Ausscheidungsstellen wegen der besonderen chemischen Bedingungen, die es dort antrifft, höhere Ionenkonzentrationen als in jedem anderen Teile des Organismus erreichen und mithin hier ausschließlich die ersten und schwersten toxischen Erscheinungen hervorrufen kann.

---

[1]) Elbe gibt jedoch eine ganz andere Erklärung dieser Tatsache. In Übereinstimmung mit seiner Hypothese behauptet er, in der hydronephrotischen Niere trete eine starke und andauernde mechanische Reizung ein, welche die Erregbarkeit der vasomotorischen Nerven der Nieren herabsetze; so könnten, wie er meint, die Gefäße der Niere sich wegen der Einwirkung des Quecksilbers nicht mehr stark zusammenziehen und sekundär die Veränderungen in der Ernährung und die anatomischen Veränderungen verursachen, die zur Nephritis mercuralis führen.

Den physikalisch-chemischen Zustand des Quecksilbers berücksichtigt nur Almkvist bei seiner oben angeführten Hypothese; da er aber die chemischen und physikalisch-chemischen Fragen, die das Quecksilber betreffen, nicht genau erwogen hat, so hat er irrtümlicherweise dem Queckilbersulfid eine pathogenetische Bedeutung beigelegt, die es absolut nicht hat und nicht haben kann. Als Almkvist von der Untersuchung histochemischer Reaktionen ausging,[1]) die er durch Schwefelwasserstoff hervorrief, um die Lokalisierung des Quecksilbers in den Geweben zu bestimmen, gelangte er zu der Ansicht, daß die Ursache der Colitis und Stomatitis mercurialis durch die Bildung von Quecksilbersulfid zu erklären sei.[2]) Auf S. 860 stellt er seine Hypothese folgendermaßen auf: „Sind in der „Mundhöhle und im Dickdarm absehbare Fäulnisprozesse vor„handen, so wird hierdurch die Schleimhaut etwas aufgelockert „oder erodiert. Durch diese veränderte Schleimhaut wird das „von den Fäulnisprozessen gebildet H_2S-Gas teilweise resorbiert. „Enthält das Blut des Tieres Quecksilber, so entsteht dabei „in den oberflächlichen Capillarschlingen ein Niederschlag von „Schwefelquecksilber, welcher sich in den Endothelzellen der „Gefäßwand niederschlägt. — Hierdurch wird die physiologische „Rolle der Gefäßwand für die Zirkulation gestört, und infolge„dessen leidet die Nutrition des Gewebes.“ —

Diese Hypothese ist vom toxikologischen Gesichtspunkte aus insofern unvollständig, als sie nur die Pathogenese der Stomatitis und der Colitis zu erklären befähigt ist, und die Nephritis vollständig unberücksichtigt läßt; wenn man aber auch davon absieht, so ist sie doch nicht annehmbar, da sie in offenem Widerspruche zu vielen sicheren chemischen, physikalisch-chemischen und pharmakologischen Tatsachen steht. Sie stützt sich vor allem auf die Bildung eines „Niederschlags von Schwefelquecksilber“, dessen Vorhandensein durch die histologischen Untersuchungen von Elbe[3]) ernstlich in Zweifel ge-

---

[1]) Almkvist, J., Experimentelle Studien über die Lokalisation des Quecksilbers bei Quecksilbervergiftung. Nord. med. Arch. 1903, Abt. 2, Nr. 6.

[2]) Almkvist, J., Über die Pathogenese dsr merkuriellen Colitis und Stomatitis. Dermatologische Zeitschr. 13, 827—862, 1906.

[3]) Elbe, Die Nieren- und Darmveränderungen bei der Sublimat-

zogen worden ist; sodann müßte sich dieser Niederschlag im Innern der Gewebe bilden, noch genauer ausgedrückt „in den oberflächlichen Capillarschlingen", d. h. in einer kolloidalen Umgebung. Durch Lobry de Bruyns[1]) Untersuchungen aber wissen wir, daß amorphe Niederschläge (und amorph ist das einzige stabile Quecksilbersulfid, das bekannt ist), wenn sie sich in kolloidaler Umgebung bilden sollen, nicht eintreten, sondern selbst im kolloidalen Zustande bleiben. Alle Experimente, die ich in vitro und in Anwesenheit von Gummi arabicum, Gelatine, Eieralbumin und Blutserum gemacht habe, bewiesen in der Tat, daß das Schwefelquecksilber sich in Anwesenheit von Kolloiden bildet und stabil im kolloidalen Zustande bleibt. Wenn es sich daher bei den Experimenten von Almkvist wirklich um Schwefelquecksilber, und zwar in Gestalt eines Niederschlags, handelt, so ist anzunehmen, daß die Fällung während und infolge der histologischen Behandlung der Präparate eingetreten ist. Wenn wirklich Schwefelquecksilber im Zustande eines Niederschlags in den lebenden Geweben vorhanden wäre, so würde man nicht verstehen, warum er so schwere Schäden verursacht, ja sogar die bei der mercuriellen Stomatitis anzutreffenden tiefgehenden Veränderungen hervorruft. Hier ist nur eines möglich: entweder könnte dieses Präparat durch seine bloße mechanische Anwesenheit oder durch seine chemischen Eigenschaften schädlich wirken. Bezüglich der ersten Annahme ist zu bemerken, daß wir im Argyrismus ein klassisches Beispiel von sehr feinen und ausgedehnten Niederschlägen haben, die während des ganzen Lebens fortbestehen und, da sie chemisch unwirksam sind (körniges metallisches Silber), nie irgend einen Schaden verursachen. In der Pathologie gibt es kein Beispiel einer so lebhaften, durch untätige Fremdkörper hervorgerufenen Reaktion wie beim Mercurialismus.

Was die zweite Annahme betrifft, so ist zu erwidern, daß, wenn der Niederschlag aus Quecksilbersulfid besteht, das sich im Gewebe selbst vor der Schwefelverbindung gerade an der

---

vergiftung des Kaninchens in ihrer Abhängigkeit vom Gefäßnervensystem. Virchows Archiv **182**, 445—498, 1905.

[1]) C. A. Lobry de Bruyn, L'état physique des substances insolubles dans l'eau, formées dans un milieu de gélatine. Réc. Trav. chim. Pays-Bas-T. **14**, 236—249, 1900.

Stelle, wo sie sich befindet, gebildet hatte, ein anderes Quecksilberpräparat in einer mit dem Schwefelquecksilber stöchiometrisch identischen Menge vorhanden sein mußte; ein auf elektrolytischem Wege eher zerlegbares Präparat als das Schwefelquecksilber, da sonst die Schwefelverbindung selbst sich nicht hätte bilden können; ein Quecksilberpräparat, dem sicherlich eine Ionenkonzentration von freiem Quecksilber entsprechen mußte, die größer war als diejenige, welche aus einer Schwefelverbindung stammen kann.

Nun wird es aber jedermann klar sein, daß es widersinnig wäre, auschließlich dem Schwefelquecksilber eine schädliche chemische Wirkung zuzuschreiben, und die des Quecksilberpräparates, die in jenem Augenblick der Bildung der Schwefelverbindung vorausgegangen war, völlig unberücksichtigt zu lassen. Es wäre widersinnig, der am wenigsten dissoziierten und unlöslichsten, der am wenigsten chemisch aktiven und am geringsten toxischen Verbindung, welche die Pharmakologie kennt, eine schädlichere Wirkung zuzuschreiben, während in der Niere, wo nicht mehr von einer Schwefelverbindung die Rede sein kann, sicherlich durch die Wirkung eines anderen Quecksilberpräparates noch sehr schwere anatomische Läsionen hervorgerufen werden.

Es ist vielmehr sehr wahrscheinlich, um nicht zu sagen sicher, daß jenes Quecksilberpräparat, das im Blute zirkuliert und zur Niere gelangt, gleichzeitig auch zu den Schleimhäuten des Mundes und des Dickdarmes gelangt und wirklich das Präparat ist, das auch diese toxischen Lokalisationen verursacht, und das in jedem Falle, auch wenn man Almkvists Hypothese annimmt, stets an jener bestimmten Stelle des Gewebes vor der Bildung des Niederschlages der Schwefelverbindung hätte vorhanden sein müssen.

Dieser Hypothese widerspricht die Toxikologie, die schon längst den Schwefelwasserstoff für eines der besten Gegengifte bei Quecksilbervergiftungen hält, die auf gastrischem Wege stattgefunden haben; ihr widersprechen meine Versuche mit Schwefelwasserstoff als Gegengift bei allgemeiner akuter Sublimatvergiftung. Ferner widerspricht ihr die absolute Unschädlichkeit des in die Muskelmasse oder ins Peritoneum von Hunden injizierten Quecksilbersulfids, das sich dort noch

viele Monate später nicht resorbiert vorfindet, ohne daß je eine Erscheinung von lokaler Reizung oder auch nur die geringste allgemeine Störung eingetreten wäre. Gegen diese Hypothese sprechen ferner einige klinische Beobachtungen aus früherer und neuerer Zeit (Respighi, Desmolière u. a.), die den Nachweis führen, daß der Gebrauch von Schwefelwasserstoff haltigem Wasser die Quecksilberpräparate besser vertragen läßt.

Aus allen diesen Gründen scheint es mir, um es nochmals zu betonen, wahrlich nicht logisch, wenn man gerade dem Quecksilbersulfid, und zwar in diesem einzigen Falle, eine so schädliche Wirkung zuschreibt und gleichzeitig die unzweifelhaft stärkere Wirkung des Quecksilberpräparates unberücksichtigt läßt, das vor der Schwefelverbindung vorhanden war. Meiner Ansicht nach muß das Quecksilbersulfid, wenn es wirklich, in Übereinstimmung mit der Theorie Elbes, vorhanden ist, sich sekundär nach der lokalen toxischen Erscheinung bilden. In dieser Ansicht bestärken uns einige Beobachtungen Galeottis, unsere eigenen und die von anderen Autoren, aus denen hervorgeht, daß die Diffusion der Salze durch die tierischen Membranen viel schneller und intensiver stattfindet, wenn letztere tot, als wenn sie lebendig sind. Auf diese Weise könnten wir uns sogar die Entstehung einer Schwefelverbindung an sehr begrenzten Stellen erklären, an denen vorher Tod der Zellelemente eingetreten war.

Endlich kann die Hypothese Almkvists, wenn man auch zugäbe, daß sie die Lokalisationen der Stomatitis und der Colitis deuten könnte, die Erscheinung der Nephritis durchaus nicht erklären; und wir wären deshalb gezwungen, bei einem und demselben toxischen Agens (Quecksilber), das auf einen einzigen Organismus einwirkt, verschiedene pathogenetische Momente für verschiedene Organe anzunehmen. Dies erscheint jedoch bei genauer kritischer Untersuchung sehr wenig wahrscheinlich, um nicht zu sagen, unmöglich, wenn es auch auf den ersten Blick denkbar zu sein scheint. Das Quecksilber ist kein Gift von elektiver Wirkung, kein Gift für nur einige Protoplasmen, sondern ein universelles Gift für alle; dies will sagen, daß es nicht einige von den spezialisierten vitalen Wirkungen und Tätigkeiten der differenzierten Protoplasmen an-

greift, sondern ein gewisses universelles, gemeinsames und sehr wesentliches Etwas im Leben der Protoplasmen ist. Dieses Etwas finden wir gerade bei den Veränderungen, die es bei den Eiweißstoffen herbeiführt. Damit aber diese Wirkungen (deren Grenze die Präcipitation ist) eintreten, damit die toxische Wirkung auf ein Infusorium oder ein höheres Tier sich kundgeben, damit eine lokale oder allgemeine Wirkung zustande kommen kann oder die therapeutische Beeinflussung möglich ist; dazu ist stets die Anwesenheit von Hg-Ionen in einer bestimmten Konzentration erforderlich, und diese Konzentration muß auch unzweifelhaft die physikalisch-chemische Grundlage der anatomischen Lokalisationen der Quecksilbervergiftung beim Menschen und bei den höheren Tieren sein.

Nehmen wir also jetzt unseren Gedanken wieder auf, wie wir ihn weiter oben ausgesprochen haben. Wir werden nun erwägen müssen, ob an den gewöhnlichen Ausscheidungsstellen des Quecksilbers besondere physikalisch-chemische Bedingungen vorhanden sind, die ihm gestatten, höhere Ionenkonzentrationen als in den übrigen Teilen des Organismus zu erreichen.

Zwei allgemeine Bedingungen tragen mächtig dazu bei, die Konzentration der Quecksilberionen im Organismus auf einem sehr tiefen Stande zu erhalten: die Anwesenheit der Eiweißkörper und die der Chloride. Der Speichel enthält kein Eiweiß und ist bekanntlich die an Chloriden ärmste Flüssigkeit, die im ganzen Körper der Säugetiere enthalten ist; deshalb muß bei Gleichheit aller anderen Bedingungen das Quecksilber im Speichel eine höhere Ionenkonzentration erlangen als irgendwo anders, und die vom Speichel benetzte Mundschleimhaut[1]) ist die erste, welche erkrankt.

In der Speiseröhre findet keine Hemmung des Speichels oder der Sekrete statt, also auch keine Läsion. Im Magen finden wir eine hohe Konzentration von Chloriden und die Salzsäure, die einen starken Rückgang in der Dissoziation des Quecksilbers bewirken; wir finden die Chloride und die Eiweißstoffe der Nahrungszufuhr, welche die Ionenkonzentration noch mehr herabsetzen. Deshalb tritt im Magen keine Störung ein.

[1]) Dazu tragen noch die im Speichel vorhandenen Mikroorganismen, organischer Detritus, Fäulnisvorgänge, cariöse Zähne bei, lauter klinische Erfahrungen.

Im Dünndarm ist die Menge der Chloride und der Peptone noch eine große, und die Konzentration der Quecksilberionen bleibt infolgedessen immer eine sehr schwache. Dann aber werden allmählich infolge des Resorptionsvorganges im Darmrohr die Chloride und Albumosen usw. resorbiert, bis sie beinahe vollständig in den Faeces verschwinden; alsdann kann die Konzentration der Quecksilberionen wieder eine hohe werden, und in der Tat treten die toxischen Erscheinungen des Verdauungsrohres wieder im Kolon auf.

Aber — wird man sagen — wie steht es denn mit der mercuriellen Nephritis?

Sie ist gleichfalls an die normale Absonderungsfunktion der Niere gebunden, denn in der infolge Unterbindung des Harnleiters hydronephrotisch gewordenen Niere findet man (nach Elbe) fast gar keine Läsionen. Auch hier kann — wie beim Speichel, — da der normale Harn kein Eiweiß enthält, das Quecksilber eine hohe Konzentration seiner Ionen erreichen und eine schwere Verletzung der Niere selbst verursachen. Sodann beschränkt sich die Verletzung nicht allein auf die Niere, da Nierenbecken, Harnleiter, Harnblase und Harnröhre vollständig intakt bleiben, sondern in der Niere selbst werden fast ausschließlich die gewundenen Kanälchen ergriffen (Elbe). Diese ganz eigentümliche Lokalisation der Läsionen allen Harnwegen entlang ließe sich ebenfalls wieder durch eine physikalisch-chemische Auffassung erklären, wenn man mit Ludwig annimmt, daß der Harn ursprünglich in sehr verdünntem Zustande abgesondert wird und sich dann allmählich längs der gewundenen Kanälchen und der Henleschen Schleifen konzentriert. Auf diese Weise könnte die Dissoziation des Quecksilbers dort vollständiger sein, wo der Harn, weil er sehr verdünnt ist, eine schwache Konzentration der Chloride hat, während später, in dem Maße wie er immer konzentrierter wird, die Chloride des Harns ebenfalls immer konzentrierter werden. Sie verursachen dann einen stetig größeren Rückgang in der Dissoziation des Quecksilbers, und zwar bis zu dem Grade, daß sie seine Wirkung völlig aufheben; doch glaube ich, daß hier nicht der Ort ist, allzu lange dabei zu verweilen.

* * *

Aus allen meinen bisherigen Darlegungen ergibt sich, daß durch die physikalisch-chemische Betrachtung eine vollständige Erklärung der pharmakologischen und toxischen Wirkung des Quecksilbers gegeben werden kann, und zwar nicht nur hinsichtlich der wichtigsten Tatsachen, sondern auch was kleine Einzelheiten betrifft. Mir hat es Freude gemacht, diese Ansicht an dieser Stelle zu entwickeln, die, wenn sie begründet ist, wie ich glaube, gewiß eine fruchtbare Basis für neue und manigfaltige Untersuchungen über das Quecksilber bilden wird.

Veränderungen der Oberflächenspannung des Blutserums unter dem Einfluß von verschiedenen Elektrolyten.

Von

G. Buglia.

(Physiologisches Institut der Kgl. Universität Neapel unter Leitung von Prof. Fil. Bottazzi.)

Mit 6 Figuren im Text.

Heutzutage ist allgemein bekannt, welche Bedeutung das Studium der Oberflächenspannung für die Kenntnis und Erklärung vieler im Innern der kolloidalen Lösungen eintretenden Erscheinungen hat. So z. B. unterliegt es keinem Zweifel, daß Veränderungen der Oberflächenspannung auf die Verwandlung eines Kolloids aus dem Sol-Zustande in den Gel-Zustand einen großen Einfluß ausüben müssen. Jenes Studium erweist sich deshalb auch bei den Erscheinungen der Fällung der Eiweißstoffe durch die Elektrolyte als interessant. Zur Aufklärung dieser Erscheinungen hielt ich es für angezeigt, eine Reihe von Untersuchungen durchzuführen, bei denen ich zunächst mit dem Studium der präcipitierenden Wirkung der Säuren auf das Blutserum beginnen will.

Diese Wirkung ist zum Teil schon bekannt sowohl durch die für das Auge sichtbare Erscheinung der Präcipitation selbst, als auch durch einige schon von anderen Autoren betonte physikalisch-chemische Veränderungen. Welche Unterschiede und welche Veränderungen aber bei Untersuchung der Oberflächenspannung infolge der fortschreitenden Konzentration der Wasserstoffionen oder den verschiedenen chemischen Eigenschaften der anorganischen und organischen Säuren entsprechend eintreten, das hat bis jetzt, soviel ich weiß, noch kein Autor auch nur angedeutet.

Die von mir bei diesen Untersuchungen über die Oberflächenspannung befolgte Methode ist die von Fano und Mayer[1])

[1]) G. Fano und M. Mayer, „Sulla tensione superficiale del siero di sangue", Archivio di Fisiol. V^e, IV. 1907, 165, 177.

beschriebene. Meines Erachtens bestätigen die Resultate, die ich jetzt auseinandersetzen werde, ebenfalls die Überlegenheit dieser Methode über alle anderen bisher bei ähnlichen biologischen Untersuchungen verwendeten.

Bei meinen Experimenten benutzte ich das klare und kurz zuvor entnommene Blutserum vom Rinde. Bei jedem Experiment fügte ich einem konstanten Volumen von Blutserum ein konstantes Volumen der Lösung der Säure in verschiedenen Konzentrationen hinzu, die ich stets durch Verdünnung derselben mit Hilfe einer normalen NaOH-Lösung titrierten Säurelösung erhalten hatte. Ich verwendete reines Serum und mit Wasser verdünntes Serum. Ferner machte ich bei einigen Versuchen die Mischungen derart, daß ich, während ich auf einer Seite die Menge des Serums verminderte, auf der anderen die Menge $^n/_{10}$-Säurelösung entsprechend erhöhte. Die Mischungen von Blutserum und Säure ließ ich sodann eine Stunde lang bei 37° C im Thermostaten und filtrierte sie jedesmal, ehe ich die Bestimmungen vornahm. Bei meinem Bericht über die Resultate gebe ich einfach die Verschiebung in *mm* der Flüssigkeit an, die in dem mit dem Apparat verbundenen Manometer enthalten ist, nicht den absoluten Wert der Oberflächenspannung. Die Beziehung zwischen den Zahlen würde bei Anwendung der bekannten Formel $\pi r^2 h D g = 2 \pi r T$ sich nicht ändern, da ich stets genau dieselben experimentellen Bedingungen beibehielt (die konstante Temperatur von 37,5° C, die nämliche Capillare für alle Bestimmungen), wie dies ja bei vergleichenden Bestimmungen der Viskosität von Flüssigkeiten gewöhnlich geschieht, die bequem durch die Ausflußzeit wiedergegeben werden können.

Von den vielen mit Säuren gemachten Experimenten führe ich nun, in Tabellen geordnet, nur diejenigen an, welche die Wirkung von H_2SO_4, HCl, $C_2H_4O_2$ und $C_2H_2O_4$ betreffen.

Es folgen dann noch einige andere Experimente über den Einfluß der molekularen Konzentration (NaCl), der Verdünnung sowohl mit H_2O als mit $^n/_{10}$ NaCl, sowie über die Wirkung der Alkalien (NaOH) sowohl auf das Serum des normalen Blutes als auf das 30′ vorher mit HCl oder $C_2H_4O_2$ angesäuerte Serum.

Tabelle I.

(15. IV. 08.) Temper. 16° C.
Serum + H_2SO_4. (1. Experiment.)
10 ccm der verwendeten Lösung von H_2SO_4 werden neutralisiert durch 10 ccm einer normalen Lösung von NaOH (Indikator: Rosolsäure).

Serum ccm	H_2SO_4-Lösung ccm	H_2SO_4-Lösung in der Konzentration	Ungleichheit des Niveaus im Manometer in mm	Bemerkungen
8,0	2,0	—	37,2	nicht vollkommen klar. Alkalische Reaktion gegen Lackmuspapier.
8,0	2,0	$^1/_{50}$ normal	37,0	idem.
8,0	2,0	$^1/_{30}$,,	36,8	idem.
8,0	2,0	$^1/_{20}$,,	36,6	idem.
8,0	2,0	$^1/_{10}$,,	36,8	klar. Leicht sauere Reaktion mit Lackmuspapier.
8,0	2,0	$^1/_8$,,	36,8	idem.
8,0	2,0	$^1/_6$,,	35,2	trüb. Sauere Reaktion. Das Filtrat ist klar.
8,0	2,0	$^1/_5$,,	34,0	idem.
8,0	2,0	$^1/_4$,,	35,2	trüb. Stark sauere Reaktion. Das Filtrat ist opalescent.
8,0	2,0	$^1/_3$,,	33,4	idem.
8,0	2,0	$^1/_2$,,	—	gelatineartiges Aussehen.
8,0	2,0	1 ,,	—	idem.

Tabelle II.

(17. IV. 08.) Temper. 16° C.
Serum + H_2SO_4. (2. Experiment.)

Serum ccm	H_2O ccm	H_2SO_4-Lösung ccm	H_2SO_4-Lösung in der Konzentration	Ungleichheit des Niveaus im Manometer in mm	Bemerkungen
5,0	3,0	2,0	—	37,5	das Filtrat ist klar. Alkalische Reaktion.
5,0	3,0	2,0	$^1/_{50}$ normal	37,2	idem.
5,0	3,0	2,0	$^1/_{30}$,,	37,0	idem.
5,0	3,0	2,0	$^1/_{20}$,,	37,5	klar. Leicht sauere Reaktion.
5,0	3,0	2,0	$^1/_{10}$,,	36,6	trüb mit Flocken. Das Filtrat ist klar. Sauere Reaktion.
5,0	3,0	2,0	$^1/_8$,,	34,3	reichlicher flockiger Niederschlag. Das Filtrat ist klar.

Tabelle II (Fortsetzung).

Serum ccm	H_2O ccm	H_2SO_4-Lösung ccm	in der Konzentration	Ungleichheit des Niveaus im Manometer in mm	Bemerkungen
5,0	3,0	2,0	1/6 normal	34,0	idem.
5,0	3,0	2,0	1/4 „	35,7	opalescent. Das Filtrat ist opalescent.
5,0	3,0	2,0	1/3 „	35,7	idem.
5,0	3,0	2,0	1/2 „	35,2	idem.
5,0	3,0	2,0	1 „	36,1	mehr opalescent als das vorige. Sehr viskös. Nach einigen Stunden hat es gelatineartigeKonsistenz.
5,0	3,0	2,0	1 „	36,1	opalescent.
5,0	3,0	2,0	1 „	—	
5,0	3,0	3,0	1 „	—	das Gemisch ist sehr viskös: es filtriert nicht. Nach vielen Stunden hat es gelatineartigeKonsistenz.

Tabelle III.

(18. IV. 08.) Temper. 15° C.

Serum + H_2SO_4. (3. Experiment.)

Serum ccm	H_2O ccm	H_2SO_4-Lösung ccm	in der Konzentration	Ungleichheit des Niveaus im Manometer in mm	Bemerkungen
2,0	6,0	2,0	—	37,7	einige kleine Flocken. Das Filtrat ist klar. Leicht alkalische Reaktion.
2,0	6,0	2,0	1/100 normal	37,5	idem.
2,0	6,0	2,0	1/50 „	37,5	idem.
2,0	6,0	2,0	1/30 „	37,7	reichlicher flockiger Niederschlag. Leicht sauere Reaktion.
2,0	6,0	2,0	1/20 „	35,2	idem. Sauere Reaktion.
2,0	6,0	2,0	1/10 „	35,7	klar.
2,0	6,0	2,0	1/8 „	36,4	idem.
2,0	6,0	2,0	1/6 „	37,0	idem.
2,0	6,0	2,0	1/4 „	36,6	idem.
2,0	6,0	2,0	1/2 „	36,4	idem.
2,0	6,0	2,0	1 „	36,6	idem.
2,0	4,0	4,0	1 „	36,6	leicht opalescent.
2,0	—	8,0	1 „	36,4	opalescent.

Tabelle IV.

(1. III. 08.) Temper. 14° C.
Serum + H_2SO_4. (4. Experiment.)
10 ccm der verwendeten H_2SO_4-Lösung werden neutralisiert durch 10 ccm einer $n/_{10}$ NaOH-Lösung (Indikator: Rosolsäure).

Serum ccm	H_2SO_4-Lösung ccm	Ungleichheit des Niveaus im Manometer in mm	Bemerkungen
10,0	—	38,0	klar. Leicht opalescierende Reaktion.
9,5	0,5	37,5	leicht opalescierend.
9,0	1,0	38,0	idem.
8,0	2,0	37,0	klar.
7,0	3,0	35,2	idem.
6,0	4,0	35,2	trüb. Es entwickeln sich zahlreiche Gasbläschen.
5,0	5,0	36,3	leicht getrübt.
3,0	7,0	37,7	klar.
1,0	9,0	38,0	idem.
—	10,0	53,5	

Tabelle V.

(10. IV. 08.) Temper. 14° C.
Serum + HCl. (1. Experiment.)
10 ccm der verwendeten HCl-Lösung werden neutralisiert durch 10 ccm einer n-Lösung von NaOH (Indikator: Rosolsäure).

Serum ccm	HCl-Lösung ccm	HCl-Lösung in der Konzentration	Ungleichheit des Niveaus im Manometer in mm	Bemerkungen
8,0	2,0	—	37,0	klar. Leicht alkalische Reaktion gegen Lackmuspapier.
8,0	2,0	$^1/_{50}$ normal	36,6	idem.
8,0	2,0	$^1/_{30}$ „	36,6	idem.
8,0	2,0	$^1/_{15}$ „	36,8	idem.
8,0	2,0	$^1/_{10}$ „	37,2	leicht trüb. Leicht sauere Reaktion.
8,0	2,0	$^1/_8$ „	37,0	idem.
8,0	2,0	$^1/_6$ „	33,4	trüb. Sauere Reaktion.
8,0	2,0	$^1/_4$ „	33,4	idem.
8,0	2,0	$^1/_3$ „	34,6	leicht opalescent.
8,0	2,0	$^1/_2$ „	34,8	klar.
8,0	2,0	1 „	34,8	leicht opalescent.

Tabelle VI.

(25. IV. 1908.) Temper. 15,5° C.
Serum + HCl. (2. Experiment.)

Serum ccm	H_2O ccm	HCl-Lösung ccm	HCl-Lösung in der Konzentration	Ungleichheit des Niveaus im Manometer in mm	Bemerkungen
5,0	3,0	2,0	—	37,3	klar. Alkalische Reaktion.
5,0	3,0	2,0	$^1/_{50}$ normal	37,0	idem.
5,0	3,0	2,0	$^1/_{30}$ „	37,0	leicht trüb. Das Filtrat ist klar.
5,0	3,0	2,0	$^1/_{20}$ „	37,0	idem. Leicht sauere Reaktion.
5,0	3,0	2,0	$^1/_{10}$ „	36,3	reichlicher flockiger Niederschlag. Klares Filtrat. Sauere Reaktion.
5,0	3,0	2,0	$^1/_8$ „	34,3	idem.
5,0	3,0	2,0	$^1/_6$ „	34,1	idem.
5,0	3,0	2,0	$^1/_4$ „	35,2	leicht trüb.
5,0	3,0	2,0	$^1/_3$ „	35,4	klar.
5,0	3,0	2,0	$^1/_2$ „	36,3	idem.
5,0	3,0	2,0	1 „	—	opalescent, gelatineartiges Aussehen.
5,0	—	5,0	1 „	—	idem. Aussehen wie in der Wärme geronnenes Serum

Tabelle VII.

(21. II. 1908.) Temper. 13° C.
Serum + HCl. (3. Experiment.)
10 ccm der verwendeten HCl-Lösung werden neutralisiert durch 10 ccm einer $n/_{10}$-NaOH-Lösung (Indikator: Rosolsäure).

Serum ccm	HCl-Lösung ccm	Ungleichheit des Niveaus im Manometer in mm	Bemerkungen
10,0	—	38,0	leicht blutig.
9,5	0,5	37,0	idem.
9,0	1,0	37,5	idem.
8,0	2,0	37,7	idem.
7,0	3,0	36,1	idem. Es entwickeln sich Gasbläschen.
6,0	4,0	34,5	leicht trüb.
5,0	5,0	35,0	klar.
4,0	6,0	37,0	idem.
2,0	8,0	38,2	idem.
1,0	9,0	38,4	idem.
—	10,0	54,2	

Tabelle VIII.

(26. IV. 1908.) Temper. 15,5° C. Serum + $C_2H_4O_2$. (1. Experiment.) 10 ccm der verwendeten $C_2H_4O_2$-Lösung werden neutralisiert durch 10 ccm einer n-Lösung von NaOH (Indikator: Phenolphthaleïn).

Serum	Lösungen von $C_2H_4O_2$		Ungleichheit des Niveaus im Manometer in mm	Bemerkungen
ccm	ccm	in der Konzentration		
8,0	2,0	—	37,0	klar. Alkalische Reaktion.
8,0	2,0	1/50 normal	37,0	idem.
8,0	2,0	1/30 "	36,8	idem.
8,0	2,0	1/20 "	36,8	idem.
8,0	2,0	1/10 "	37,0	idem. Leicht sauere Reaktion.
8,0	2,0	1/8 "	37,0	leicht trüb. Wird bei 37° C. klar. Leicht sauere Reaktion.
8,0	2,0	1/6 "	36,0	idem.
8,0	2,0	1/4 "	34,0	leicht trüb. Das Filtrat ist klar. Sauere Reaktion.
8,0	2,0	1/3 "	34,0	trüb. Das Filtrat ist klar.
8,0	2,0	1/2 "	34,3	idem.
8,0	2,0	1 "	34,3	klar: wird bei 37° C. leicht opalescent.

Tabelle IX.

(27. IV. 1908.) Temper. 15° C. Serum + $C_2H_4O_2$. (2. Experiment.)

Serum	H_2O	$C_2H_4O_2$-Lösung		Ungleichheit des Niveaus im Manometer in mm	Bemerkungen
ccm	ccm	ccm	in der Konzentration		
5,0	3,0	2,0	—	36,8	klar. Alkalische Reaktion.
5,0	3,0	2,0	1/30 normal	36,8	leicht opalescent. Leicht alkalische Reaktion.
5,0	3,0	2,0	1/20 "	37,0	klar.
5,0	3,0	2,0	1/10 "	37,0	trüb. Das Filtrat ist klar. Sauere Reaktion.
5,0	3,0	2,0	1/8 "	36,3	reichlicher flockiger Niederschlag.
5,0	3,0	2,0	1/6 "	35,2	idem.
5,0	3,0	2,0	1/4 "	34,0	idem.
5,0	3,0	2,0	1/3 "	34,2	weniger reichlicher Niederschlag als bei dem vorigen.
5,0	3,0	2,0	1/2 "	34,0	trüb: kein Sediment.
5,0	3,0	2,0	1 "	34,0	leicht opalescent.
5,0	2,0	3,0	1 "	34,3	klar.
5,0	1,0	4,0	1 "	34,0	idem.
5,0	—	5,0	1 "	34,0	idem.

Tabelle X.

(28. IV. 1908.) Temper. 15° C. Serum + $C_2H_4O_2$. (3. Experiment.)

Serum ccm	H_2O ccm	$C_2H_4O_2$-Lösung ccm	$C_2H_4O_2$-Lösung in der Konzentration	Ungleichheit des Niveaus im Manometer in mm	Bemerkungen
2,0	6,0	2,0	—	36,5	klar. Leicht alkalische Reaktion.
2,0	6,0	2,0	1/100 normal	36,8	etwas trübe. Das Filtrat ist leicht opalescent.
2,0	6,0	2,0	1/40 „	37,0	flockiger Niederschlag. Das Filtrat ist klar. Leicht sauere Reaktion.
2,0	6,0	2,0	1/20 „	36,8	reichlicher Niederschlag. Das Filtrat ist klar. Sauere Reaktion.
2,0	6,0	2,0	1/10 „	34,8	idem.
2,0	6,0	2,0	1/8 „	34,3	Niederschlag weniger reichlich wie beim vorigen.
2,0	6,0	2,0	1/6 „	34,3	idem.
2,0	6,0	2,0	1/4 „	34,3	trüb. Kein Sediment.
2,0	6,0	2,0	1/3 „	34,3	opalescent.
2,0	6,0	2,0	1/2 „	34,3	leicht opalescent.
2,0	6,0	2,0	1 „	34,3	klar.
2,0	4,0	4,0	1 „	34,3	idem.
2,0	—	8,0	1 „	34,5	idem.

Tabelle XI.

(5. III. 1908.) Temper. 14° C. Serum + $C_2H_4O_2$. (4. Experiment.)
10 ccm der verwendeten $C_2H_4O_2$-Lösung werden neutralisiert durch 10 ccm einer n/10 NaOH-Lösung (Indikator: Phenolphthaleïn).

Serum ccm	Lösungen von $C_2H_4O_2$ ccm	Ungleichheit des Niveaus im Manometer in mm	Bemerkungen
10,0	—	38,0	klar.
9,5	0,5	37,5	idem.
9,0	1,0	37,7	idem.
8,0	2,0	37,0	idem. Nach Hinzufügen der Säure entwickeln sich Gasbläschen.
6,0	4,0	35,4	trüb. Flockiges Sediment. Das Filtrat ist klar.
4,0	6,0	35,4	idem.
2,0	8,0	35,7	leicht opalescent. Kein Sediment. Wird bei 37° C klar.
1,0	9,0	36,6	idem.
—	10,0	52,6	

Tabelle XII.

(29. IV. 1908.) Temper. 15,5° C.
Serum + $C_2H_2O_4$. (1. Experiment.)
10 ccm der verwendeten $C_2H_2O_4$-Lösung werden neutralisiert durch 10 ccm einer n-Lösung von NaOH (Indikator: Phenolphthaleïn).

Serum ccm	$C_2H_2O_4$-Lösung ccm	in der Konzentration	Ungleichheit des Niveaus im Manometer in mm	Bemerkungen
8,0	2,0	—	37,2	klar. Leicht alkalische Reaktion.
8,0	2,0	1/50 normal	37,2	leicht opalescent.
8,0	2,0	1/30 „	37,2	idem.
8,0	2,0	1/20 „	37,2	idem.
8,0	2,0	1/10 „	37,2	feiner Niederschlag, bestehend aus kleinen feinen Anhäufungen von Kristallen. Leicht sauere Reaktion.
8,0	2,0	1/8 „	37,2	idem.
8,0	2,0	1/6 „	37,2	idem. Sauere Reaktion.
8,0	2,0	1/4 „	34,5	Niederschlag reichlicher als beim vorigen. Auch werden Flocken beobachtet. Das Filtrat ist klar.
8,0	2,0	1/3 „	34,0	trüb. Kein Sediment, Bodensatz. Das Filtrat bleibt trüb.
8,0	2,0	1/2 „	34,0	trüber als das vorige; sehr viskös. Das Filtrat bleibt trüb.
8,0	2,0	1 „	34,8	idem; weniger viskös.

Tabelle XIII.

(30. IV. 1908.) Temper. 16° C.
Serum + $C_2H_2O_4$. (2. Experiment.)

Serum ccm	H_2O ccm	$C_2H_2O_4$-Lösung ccm	in der Konzentration	Ungleichheit des Niveaus im Manometer in mm	Bemerkungen
5,0	3,0	2,0	—	37,5	klar. Leicht alkalische Reaktion.
5,0	3,0	2,0	1/30 normal	37,5	leicht opalescent. Das Filtrat ist nicht klar.
5,0	3,0	2,0	1/20 „	37,5	idem. Leicht sauere Reaktion.
5,0	3,0	2,0	1/10 „	37,0	kleine Flocken. Das Filtrat ist klar. Sauere Reaktion.
5,0	3,0	2,0	1/8 „	36,1	reichlicher flockiger Niederschlag. Das Filtrat ist klar.

Tabelle XIII (Fortsetzung).

Serum ccm	H_2O ccm	$C_2H_2O_4$-Lösung ccm	in der Konzentration	Ungleichheit des Niveaus im Manometar in mm	Bemerkungen
5,0	3,0	2,0	$^1/_6$ normal	34,0	idem.
5,0	3,0	2,0	$^1/_4$ „	34,0	trüb. Gibt kein flockiges Sediment. Das Filtrat ist etwas trüb.
5,0	3,0	2,0	$^1/_3$ „	34,0	idem.
5,0	3,0	2,0	$^1/_2$ „	34,5	idem.
5,0	3,0	2,0	1 „	35,0	idem. Das Filtrat ist leicht opalescent.
5,0	—	5,0	1 „	35,0	idem.

Tabelle XIV.

(12. III. 08.) Temper. 14° C.

Serum + $C_2H_2O_4$. (3. Experiment.)

10 ccm der verwendeten $C_2H_2O_4$-Lösung werden neutralisiert durch 10 ccm einer $n/_{10}$-Lösung von NaOH (Indikator: Phenolphthaleïn).

Serum ccm	$C_2H_2O_4$-Lösung ccm	Ungleichheit des Niveaus im Manometer in mm	Bemerkungen
10,0	—	37,8	klar. Leicht alkalische Reaktion.
9,5	0,5	37,0	leicht trüb.
9,0	1,0	37,0	idem.
8,0	2,0	35,6	etwas trüb. Das Filtrat ist etwas trüb. Leicht sauere Reaktion.
7,0	3,0	34,7	idem. Sauere Reaktion.
6,0	4,0	34,3	idem.
4,0	6,0	34,5	idem.
2,0	8,0	36,1	klar.
1,0	9,0	36,6	idem.
—	10,0	34,2	

Tabelle XV.

(22. IV. 08.) Temper. 15° C. Serum + NaCl.

Serum ccm	NaCl-Lösung ccm	NaCl-Lösung in der Konzentration	Ungleichheit des Niveaus im Manometer in mm	Bemerkungen
8,0	2,0	—	37,3	klar.
"	"	1/30-normal	37,3	idem.
"	"	1/10 "	37,3	idem.
"	"	1/8 "	37,3	idem.
"	"	1/6 "	37,3	idem.
"	"	1/4 "	37,0	idem.
"	"	1/2 "	37,3	idem.
"	"	1 "	37,0	idem.
"	"	2 "	37,0	idem.
"	"	4 "	37,3	idem.

Tabelle XVI.

(23. III. 08.) Temper. 14° C. Serum + H_2O.

Serum ccm	H_2O ccm	Ungleichheit des Niveaus im Manometer in mm	Bemerkungen
10,0	—	37,0	klar.
9,5	0,5	37,0	idem.
8,0	2,0	37,0	idem.
7,0	3,0	37,0	idem.
5,0	5,0	36,6	idem.
4,0	6,0	36,6	leicht opalescent.
2,0	8,0	37,7	idem.
1,0	9,0	38,2	idem.
—	10,0	53,5	

Tabelle XVII.

(2. III. 08.) Temper. 13,5° C. Serum + NaCl in n/10-Lösung.

Serum ccm	NaCl-Lösungen ccm	Ungleichheit des Niveaus im Manometer in mm	Bemerkungen
10,0	—	37,5	klar.
9,0	1,0	37,5	idem.
8,0	2,0	37,5	idem.
6,0	4,0	37,9	idem.
4,0	6,0	38,3	idem.
2,0	8,0	38,8	idem.
1,0	9,0	40,6	idem.
—	10,0	54,2	idem.

Tabelle XVIII.

(11. IV. 08.) Temper. 14,5° C.
Serum + NaOH. (1. Experiment.)
10 ccm der verwendeten NaOH-Lösung werden neutralisiert durch 10 ccm einer n-Lösung von $C_2H_2O_4$ (Indikator: Phenolphthaleïn).

Serum	NaOH-Lösung		Ungleichheit des Niveaus im Manometer	Bemerkungen
ccm	ccm	in der Konzentration	in mm	
8,0	2,0	—	37,2	klar. Leicht alkalische Reaktion.
8,0	2,0	1/50 normal	37,0	idem.
8,0	2,0	1/30 "	37,0	idem.
8,0	2,0	1/15 "	37,0	idem.
8,0	2,0	1/10 "	37,2	idem. Alkalische Reaktion.
8,0	2,0	1/8 "	36,5	idem.
8,0	2,0	1/6 "	36,0	idem.
8,0	2,0	1/4 "	36,0	leichter flockiger Niederschlag.
8,0	2,0	1/3 "	36,5	idem.
8,0	2,0	1/2 "	36,0	idem.
8,0	2,0	1 "	34,0	opalescent, sehr viskös.

Tabelle XIX.

(24. II. 08.) Temper. 13,5° C.
Serum + NaOH. (2. Experiment.)
10 ccm der verwendeten NaOH-Lösung werden neutralisiert durch 10 ccm einer $n/_{10}$-Lösung von $C_2H_2O_4$ (Indikator: Phenolphthaleïn).

Serum ccm	Lösungen von NaOH ccm	Ungleichheit des Niveaus im Manometer in mm	Bemerkungen
10,0	—	37,5	leicht blutig.
9,5	0,5	37,5	idem.
9,0	1,0	37,5	idem.
8,0	2,0	37,5	idem.
7,0	3,0	36,1	idem.
6,0	4,0	35,2	leichte Trübung.
5,0	5,0	35,7	flockiger Niederschlag. Das Filtrat ist klar.
4,0	6,0	36,6	idem.
3,0	7,0	37,5	idem.
1,5	8,5	37,5	klar.
—	10,0	52,4	

Tabelle XX.

(14. III. 1908.) Temper. 15° C.

Serum + HCl + NaOH.

10 ccm der verwendeten HCl-Lösung werden neutralisiert durch 10 ccm einer $n/_{10}$-NaCl-Lösung (Indikator-Rosolsäure).

10 ccm der verwendeten NaOH-Lösung werden neutralisiert durch 10 ccm einer $n/_{10}$-$C_2H_2O_4$-Lösung (Indikator: Phenolphthaleïn).

Serum ccm	HCl-Lösung ccm	NaOH-Lösung ccm	Ungleichheit des Niveaus im Manometer in mm	Bemerkungen
10,0	—	—	37,5	Klar.
9,0	0,5	0,5	37,5	Nach Hinzufügung der Säure und des Alkali bleibt die Mischung klar. Leicht alkalische Reaktion.
8,0	1,0	1,0	37,5	idem.
7,0	1,5	1,5	37,7	idem.
6,0	2,0	2,0	37,7	idem. Es entwickeln sich Gasbläschen.
5,0	2,5	2,5	37,5	Nach Hinzufügung der Säure wird das Serum trüb. Bei Hinzufügung des Alkali wird es wieder klar. Alkalische Reaktion.
4,0	3,0	3,0	37,2	idem.
3,0	3,5	3,5	37,5	Nach Hinzufügung der Säure und des Alkali bleibt die Mischung klar. Alkalische Reaktion.
2,0	4,0	4,0	38,0	Nach Hinzufügung der Säure ist die Mischung klar; nach Hinzufügung des Alkali entsteht ein flockiger Niederschlag, der sich gleich wieder auflöst. Die filtrierte Flüssigkeit ist opalescent.
1,0	4,5	4,5	38,0	
0,5	4,75	4,75	39,3	Klar. Leicht alkalische Reaktion.
—	5,0	5,0	54,2	

Tabelle XXI.

(20. III. 1908.) Temper. 14° C.
Serum + $C_2H_4O_2$ + NaOH.

10 ccm der verwendeten $C_2H_4O_2$-Lösung werden neutralisiert durch 10 ccm einer $n/_{10}$-NaOH-Lösung (Indikator: Phenolphthaleïn).

10 ccm der verwendeten NaOH-Lösung werden neutralisiert durch 10 ccm einer $n/_{10}$-$C_2H_4O_2$-Lösung (Indikator: Phenolphthaleïn).

Serum ccm	$C_2H_4O_2$-Lösungen ccm	NaOH-Lösungen ccm	Ungleichheit des Niveaus im Manometer in mm	Bemerkungen
10,0	—	—	37,5	Leicht opalescent.
9,0	0,5	0,5	37,5	Nach Hinzufügung der Säure und der Soda ist die Mischung klar. Leicht alkalische Reaktion.
8,0	1,0	1,0	37,7	idem.
6,0	2,0	2,0	37,5	idem.
4,0	3,0	3,0	37,2	Nach Hinzufügung der Säure ist die Flüssigkeit trüb. Durch Hinzufügung des Alkali wird sie wieder klar. Es entwickeln sich Gasbläschen. Alkalische Reaktion.
2,0	4,0	4,0	38,0	
1,0	4,5	4,5	38,4	Nach Hinzufügung der Säure und des Alkali ist die Mischung klar. Leicht alkalische Reaktion.
—	5,0	5,0	53,5	

Die Resultate werden durch die am Schluß der vorliegenden Abhandlung beigefügten Kurven ganz deutlich wiedergegeben. Bei den die Säuren betreffenden liest man auf den Ordinaten in *mm* den Unterschied im Niveau der im Manometer enthaltenen Flüssigkeit, auf den Abszissen die Konzentration der dem Blutserum hinzugefügten Flüssigkeit ab; bei den die Verdünnung und Neutralisierung der Säure durch das Alkali betreffenden ist auf den Abszissen in ccm das Volumen der Flüssigkeit und des Serums angegeben, die in jeder Mischung vorhanden sind.

Die bei den drei ersten mit H_2SO_4 angestellten Versuchen erhaltenen Kurven erscheinen unregelmäßig. Bei einer jeden

von ihnen bemerkt man zwei Senkungen, entsprechend zwei ganz verschiedenen Konzentrationen; die erste ganz geringe, wenn die Menge der dem Blutserum hinzugefügten Säure verhältnismäßig klein ist, die zweite deutlicher ausgeprägte bei einer viel größeren Konzentration der Säure. Nach dieser zweiten Senkung zeigen die Kurven die Tendenz, wieder zum

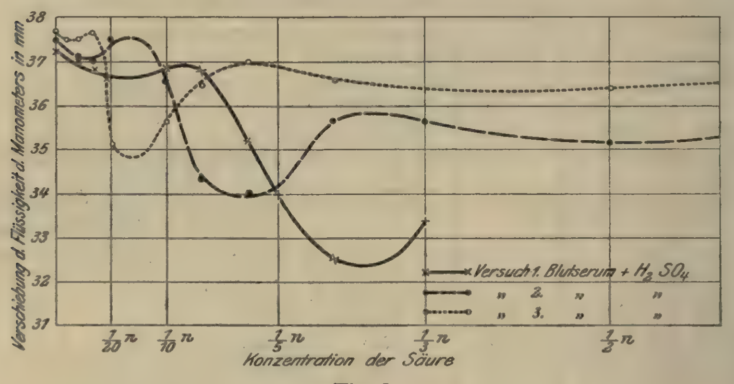


Fig. 1.

Anfangsniveau emporzusteigen; ehe sie es aber erreichen, nehmen sie eine zur Achse der Abszisse fast parallele Richtung an und laufen so auf einer sehr langen Strecke weiter. Diesen letzten Teil bemerkt man nicht bei der Kurve des ersten Experiments, weil das Serum bei einer Konzentration von $^n/_3$ der Säure in der ganzen Masse erstarrt, weshalb bei ihm unmöglich eine Bestimmung vorgenommen werden kann. Aus den drei Kurven ersieht man ferner, daß sie, je mehr das Serum verdünnt ist, um so mehr nach oben verschoben sind und um so weniger scharf ausgeprägte Krümmungen haben, die näher der Achse der Ordinaten liegen. Nun können wir aber aus den in den entsprechenden Tabellen angeführten Bemerkungen ersehen, daß die Senkungen einer jeden Kurve einem im Serum erfolgenden flockigen Niederschlag entsprechen, die Rückkehr zum Niveau des Anfangswertes der Wiederauflösung des Niederschlags und die letzte Strecke der Kurve dem Beginn der Erscheinungen des Erstarrens der ganzen Flüssigkeit. Die erste kaum merkliche Senkung jedoch entspricht nur einer ganz leichten Trübung, die man durch einen aufmerksamen Vergleich mit dem klaren normalen Serum erkennt.

Stellt man die Werte des letzten mit H_2SO_4 gemachten Experiments (4 %) durch eine Kurve dar, in welcher der der Faktor „Verdünnung" dem Faktor „Acidität" hinzugesellt ist, so würde man eine Kurve mit Einzelheiten erhalten, die von denen der eben beschriebenen Kurve nicht sehr verschieden wäre; im letzten Stück würde sie aber rasch in fast senkrechter Richtung zur Abszisse ansteigen bis zum Werte der reinen $^n/_{10}$ H_2SO_4-Lösung, die zur Ansäuerung des Serums bei diesem Experimente diente.

Ähnlich den Kurven der Schwefelsäure sind die beim Experimentieren mit HCl erhaltenen. Auch hier finden wir

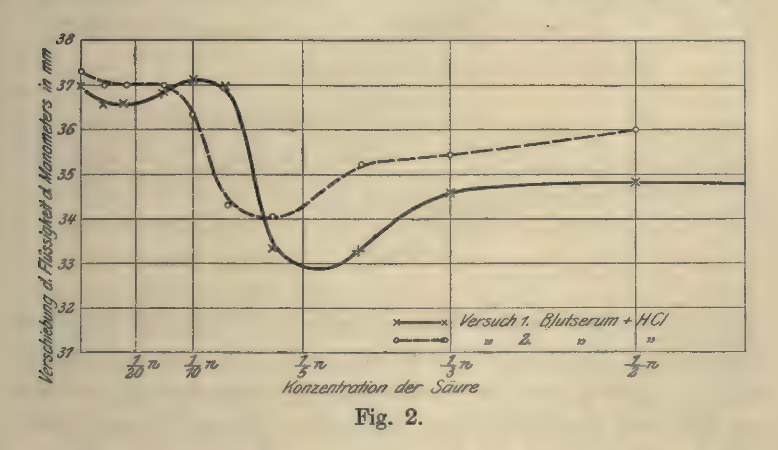


Fig. 2.

die beiden zwei verschiedenen Konzentrationen entsprechen den Senkungen, und zwar die zweite stärker ausgeprägt als die erste; wir finden die Beziehung zwischen dem Sinken oder Ansteigen der Kurve und der Bildung oder Wiederauflösung des Niederschlags; auch finden wir, daß die das verdünntere Serum betreffende Kurve nach oben und gegen die Achse der Ordinaten hin verschoben ist. Da sich aber die fallende Wirkung der Salzsäure auf das normale Serum als geringer erweist als die der Schwefelsäure, und da die Salzsäure nur bei hohen Konzentrationen zu Erstarrungserscheinungen in toto Veranlassung gibt, so gleicht die Kurve, die man hier erhält, mehr der durch Einwirkung von Schwefelsäure auf das zur Hälfte verdünnte Serum erhaltenen Kurve als der durch Einwirkung dieser Säure auf das normale Serum erhaltenen.

Etwas anders zeigen sich die Kurven von Essigsäure. Obschon man auch hier in der Mehrzahl der Fälle zwei Senkungen wahrnimmt, die ungefähr den bei der Schwefel- und Salzsäure beobachteten entsprechen, so sind sie doch nicht so scharf ausgeprägt, und die zweite bildet fast die ganze Kurve. Eine weitere Eigentümlichkeit, welche diese Kurven

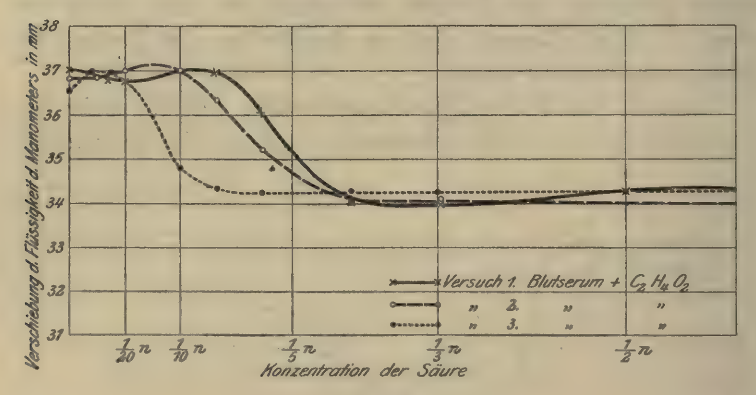


Fig. 3.

von den vorigen unterscheidet, besteht darin, daß sie nach der zweiten Senkung nicht wieder zum Anfangswert emporsteigen, sondern auf einer sehr weiten Strecke fast in gerader, zur Abszisse paralleler Linie fortlaufen. Diese Eigentümlichkeit der Kurve hat ihr Seitenstück im Verhalten des Niederschlags (cf. Experiment 2 und 3 mit dem verdünnten Blut), der sich nach und nach wieder auflöst, wenn die Konzentration der Säure sehr stark ist und wahrscheinlich auch dann, wenn die Erscheinungen des Erstarrens der ganzen flüssigen Masse schon begonnen haben, die bei anorganischen Säuren so deutlich zutage treten, bei der dem Serum in den angegebenen Verhältnissen hinzugefügten $C_2H_4O_2$ dagegen wenig hervortreten.

Auch die Kurven der Oxalsäure sind verschieden von denen der anorganischen Säuren: sie können als identisch mit denen der Essigsäure betrachtet werden, mit Ausnahme des ersten Stückes, in dem sie vollkommen wagerecht verlaufen. Dies hat sein Seitenstück in der Bildung des sehr feinen krystallhellen Niederschlags, der sich, wie die mikroskopische Unter-

suchung beweist, im Blutserum bildet, wenn diese Säure in bestimmten Verhältnissen hinzugefügt wird.

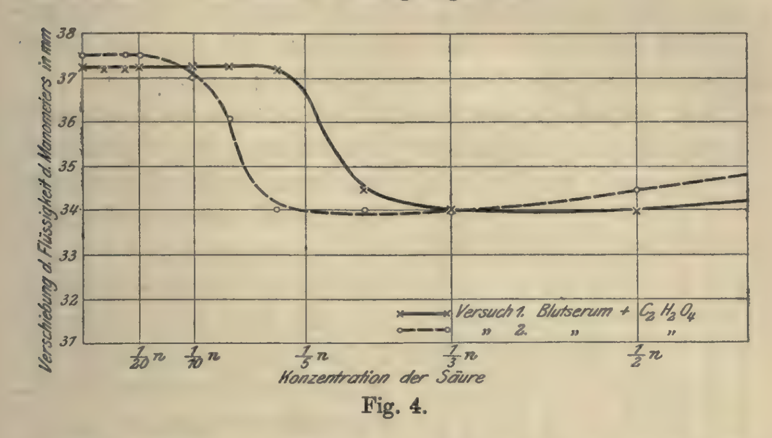


Fig. 4.

Die Werte der 15. Tabelle, die sich auf die mit NaCl in verschiedener Konzentration gemachten Bestimmungen beziehen, würden, in graphischer Kurve dargestellt, eine fast gerade Linie bilden, aus der ganz klar hervorgehen würde, daß die Veränderungen der molekularen Konzentration keinen bestimmteren Einfluß auf die Oberflächenspannung des Serums ausüben.

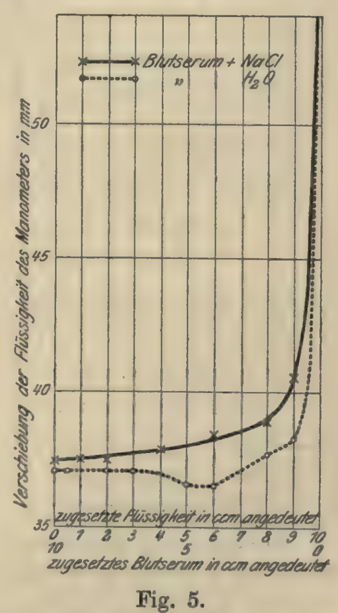


Fig. 5.

Auf der letzten Tafel findet man die bei Verdünnung des Serums mit einer $^{n}/_{10}$-Lösung von NaCl und H_2O erhaltenen graphischen Kurven, sowie diejenigen, welche die Wirkung der NaOH auf das mit HCl angesäuerte Serum betreffen. Die beiden ersten beweisen nicht nur den Einfluß der Verdünnung, sondern auch, daß bei den wenn auch leichten Erscheinungen der Präcipitation der Eiweißstoffe eine Abnahme der Oberflächenspannung eintritt. In der Tat ist die Kurve des Na-

triumchlorids regelmäßig, weil es nie eine Trübung verursacht, wenn es dem Serum in der erwähnten Konzentration hinzugefügt wird, während die Kurve des destillierten Wassers entsprechend dem Grade der Verdünnung, bei dem das Serum opaleszent wird, eine ganz leichte Senkung zeigt.

Endlich beweist die letzte Kurve, daß die durch Salzsäure bei dem Blutserum bewirkten Veränderungen der Oberflächenspannung nach Hinzufügung des Alkalis ganz unbedeutend werden; ebenso ergibt sich aus den entsprechenden Tabellen, daß die dem Auge sichtbaren Veränderungen verschwinden, die in der flockigen Fällung der Eiweißstoffe bestehen.

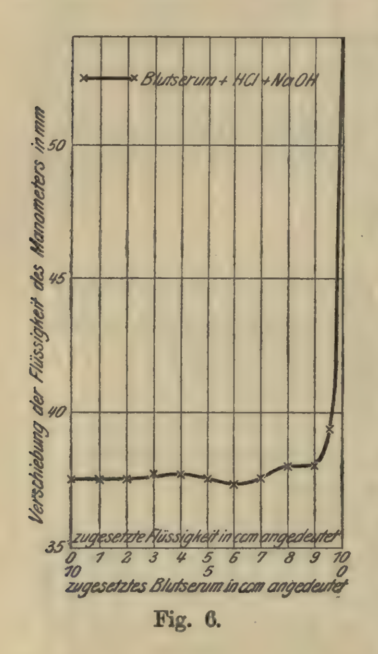


Fig. 6.

Genau die gleiche Kurve würde man erhalten, wenn man auf den Ordinaten und Abszissen die Werte der letzten Tabelle einsetzen wollte, bei denen die Ansäuerung des Serums mit Essigsäure vorgenommen wurde. In beiden Fällen erhält man den Beweis, daß die Erscheinung reversibel ist.

Von dem beim Experimentieren mit anderen Säuren erhaltenen Kurven zeigen einige einen ähnlichen Verlauf wie bei der Schwefel- und Salzsäure, andere wie bei der Essigsäure und der Oxalsäure. Es gibt aber auch solche, die sich sowohl von den ersteren als auch von den letzteren unterscheiden. Dies erklärt sich wahrscheinlich aus der verschiedenen chemischen Beschaffenheit der Säuren (Säureradikal, Stärke, elektrolytische Dissoziation usw.). Denn obschon die Krümmungen der Kurven uns größtenteils die den Wasserstoffionen eigene Wirkung auf die Eiweißsubstanz, d. h. die Erscheinung der Fällung, darstellen, so kennen wir doch die anderen Reaktionen nicht, die ev. die erwähnte Erscheinung begleiten, die in Wirklichkeit die wichtigste zu sein scheint. Noch weniger ist uns

bekannt, welchen Einfluß auf die Oberflächenspannung die Produkte der Reaktionen mit Salzen haben können, die ev. eintreten, wenn man einer Elektrolyten enthaltenden kolloidalen Flüssigkeit eine Säure hinzufügt.

Außerdem muß ich noch bemerken, daß in einigen Fällen der allgemeine Verlauf der Kurve durch die Lösung der Säure beeinflußt wird insofern, als diese selbst eine sehr niedrige Oberflächenspannung im Vergleiche zu der der Wassers (Buttersäure, Oxybuttersäure) zeigt.

Welche Beziehung zwischen der Erniedrigung der Oberflächenspannung des Serums besteht, wenn letzterem in bestimmten Verhältnissen eine Säure hinzugefügt wird, und der Ausflockung des Kolloids, d. h. ob wirklich mit der Veränderung der Oberflächenspannung die Bildung des Hydrosols oder die Ausflockung zusammenfällt usw., darüber werden vielleicht Beobachtungen mit dem Ultramikroskop Aufklärung verschaffen können. Welchen Einfluß die verschiedenen im Blutserum enthaltenen Eiweißstoffe auf die zufällige Gestaltung der besprochenen Kurven haben können, wird sich beim Experimentieren mit dem Serum herausstellen, dem der eine oder andere seiner wichtigsten Eiweißbestandteile genommen ist, oder vielleicht noch besser mit den vorher getrennten und gereinigten Kolloiden des Serums.

Physiko-chemische Eigenschaften des Blutes und der Lymphe nach Transfusion homogenen Blutes.

Von

Fil. Bottazzi und A. Japelli.

(Aus dem Physiologischen Institut der Kgl. Universität Neapel unter Leitung von Prof. Fil. Bottazzi.)

Mit 2 Figuren im Text.

I. Einleitung.

Zu einem besonderen Zweck, den wir in einer demnächst zu veröffentlichenden Arbeit angeben werden, haben wir die vorliegenden Untersuchungen über einige physikalisch-chemische Eigenschaften des Blutes und der Lymphe von Hunden angestellt, an denen Transfusion des Blutes anderer Hunde vorgenommen wurde.

Bei den der Transfusion unterzogenen Hunden untersuchten wir:

1. Die Schwankungen des relativen Blutkörperchenvolumens, und zwar vermittels des Hämatokrits, indem wir Proben von normalem Blut und hierauf Blutproben nach der Transfusion in bekannten Zeitabständen entnahmen; das Blut der letzteren Proben wurde in geschlossenen Gefäßen vermittels Schlagens mit kleinen Glaskugeln defibriniert.

2. Die Erniedrigung des Gefrierpunktes (Δ) desselben defibrinierten Blutes und der Lymphe.

3. Die elektrische Leitfähigkeit des durch spontane Gerinnung in geschlossenem Gefäß erhaltenen Blutserums und der Lymphe, wobei die Bestimmungen der elektrischen Widerstandsfähigkeit stets bei einer Temperatur von ca. 37° C vorgenommen wurden.

4. Die „Ausflußzeit" des Serums und der Lymphe, stets

mit demselben Ostwaldschen Viscosimeter und immer bei derselben Temperatur von ca. 37° C.

Die Lymphe wurde einer Fistel des Ductus thoracicus entnommen; dabei wurde die Geschwindigkeit des Ausflusses vermittels Dividieren der Volumina durch die Zeiten bestimmt, innerhalb deren erstere aufgefangen wurden.

Die Transfusion wurde stets direkt vorgenommen, und zwar auf folgende Weise. Die Hunde, welche das Blut hergaben, wurden zuerst genau gewogen, nachdem die Carotis oder die A. femoralis bloßgelegt worden war. Hierauf wurde die Arterie mit der V. femoralis des Hundes, der das Blut empfing, durch einen Schlauch aus Kautschuk in Verbindung gesetzt, und wir ließen das Arterienblut in die Vene fließen, bis kein Blut mehr durch den verbindenden Schlauch floß. Der Hund, dem das Blut entzogen worden war, wurde endlich genau gewogen, um die Menge des übergeleiteten Blutes aus der Gewichtsdifferenz zu ersehen. In einen Hund wurde das ganze Blut eines anderen Hundes oder das von zwei anderen Hunden übergeleitet. Nachdem zuerst der Hund, dem das Blut eingespritzt wurde, gewogen und das Gewicht des übergeleiteten Blutes durch das Gewicht des zum Experiment dienenden Hundes geteilt worden war, berechneten wir, wieviel Gramm Blut pro Kilogramm Körpergewicht übergeleitet worden waren.

Obwohl die Transfusionen auf diese Weise, d. h. direkt und mit homogenem, nicht defibriniertem Blut vorgenommen wurde, so waren niemals bemerkenswerte Unannehmlichkeiten zu beobachten: es trat nie der Tod ein bei dem Tiere, an dem die Transfusion ausgeführt worden war; auch wurde nie intravasale Gerinnung beobachtet, obschon weder die Kanülen noch der Kautschukschlauch paraffiniert oder mit Vaselinöl eingeschmiert worden waren. Die Transfusion wurde stets mit derselben Geschwindigkeit ausgeführt; diese Geschwindigkeit war diejenige, mit welcher das Blut spontan aus der Arterie eines Hundes in die Vene des anderen überging.

II. Versuche.

Im ganzen wurden acht Experimente angestellt. Wir berichten hier über die Resultate, die wir bei den sechs am voll-

ständigsten gelungenen erhielten. Bei den drei ersten Experimenten wurde nur das Blut untersucht, bei den drei anderen untersuchten wir sowohl das Blut als auch die Lymphe des Hundes, an dem wir die Transfusion vornahmen.

Wir nennen ,,Hund A" den, der das Blut erhielt, ,,Hund B" und ,,Hund C" diejenigen, welche das Blut hergaben.

I. Experiment (27. November 1907):

Gewicht des Hundes A: 8,455 kg.
,, ,, ,, B: 9,760 kg.

3^h 5′ nachm.: Bei A Injektion von 40 ccm einer ca. 7 %igen Witteschen Peptonlösung in physiol. Lösung.
Bei B Injektion von 50 ccm do.

3^h 15′ nachm.: Der A. cruralis von A wird die Probe normalen Blutes (1) entnommen.

3^h 15′—3^h 26′ nachm.: Transfusion aus der A. Carotis von B in die V. cruralis von A, 320 g Blut (37,82 g pro 1 kg des Tieres).

3^h 41′ nachm.: Blutprobe (2) von A.

3^h 56′ nachm.: Blutprobe (3) von A.

4^h 11′ nachm.: Blutprobe (4) von A.

Die Resultate sind in Tabelle I verzeichnet.

Tabelle I.

Laufende Nummer der Blutproben	Volumen der Blutkörperchen %	Elektrische Leitfähigkeit des Serums K 37° C	Ausflußzeit des Serums t 37° C
1	54	157×10^{-4}	1′ 36″ 1/5
2	61	152×10^{-4}	1′ 42″ 1/5
3	62	150×10^{-4}	1′ 48″
4	60,5	151×10^{-4}	1′ 47″ 1/5

II. Experiment (17. Dezember 1907):

Gewicht des Hundes A: 7,000 kg.
,, ,, ,, B: 22,100 kg.

5^h 25′ nachm.: Probe von normalem Blut des Hundes A (1).

5^h 29′—5^h 35′ nachm.: Direkte Transfusion aus der A. cruralis von B in die V. jugularis von A von 400 g Blut (37,14 g pro 1 kg Gewicht des Tieres).

5h 45′ nachm.: Blutprobe von A (2).
6h nachm.: Blutprobe von A (3).
6h 15′ nachm.: Blutprobe von A (4).
6h 30′ nachm.: Blutprobe von A (5).

Die Resultate sind in Tabelle II zusammengestellt.

Tabelle II.

Laufende Nummer der Proben	Volumen der Körperchen %	Gefrierpunkt Δ	Elektrische Leitfähigkeit des Serums K 39° C	Ausflußzeit des Serums t 37° C
1	43	0,600°	155×10^{-4}	1′ 21″ 4/5
2	56	0,575°	153×10^{-4}	1′ 33″ 2/5
3	64	0,635°	154×10^{-4}	1′ 34″ 2/5
4	55	0,610°	157×10^{-4}	1′ 32″ 2/5
5	56	0,625°	157×10^{-4}	1′ 26″ 3/5

III. Experiment (20. Dezember 1907).

Gewicht des Hundes A: 6,070 kg.
„ „ „ B: 21,200 kg.

4h 10′ nachm.: Probe von normalem Blut des Hundes A (1).
4h 14′—4h 20′ nachm.: Direkte Transfusion aus der A. Carotis von B in die V. cruralis von A, von 400 g Blut (65,89 g pro 1 kg Gewicht des Tieres.)
4h 40′ nachm.: Blutprobe von A (2).
4h 55′ nachm.: Blutprobe von A (3).
5h 10′ nachm.: Blutprobe von A (4).
5h 25′ nachm.: Blutprobe von A (5).

Die Resultate sind in Tabelle III zusammengestellt.

Tabelle III.

Laufende Nummer der Blutproben	Volumen der Blutkörperchen %	Gefrierpunkt Δ	Elektrische Leitfähigkeit des Blutserums K 37° C	Ausflußzeit des Blutserums t 37° C
1	46,5	0,595°	156×10^{-4}	1′ 22″ 3/5
2	53,5	0,570°	153×10^{-4}	1′ 31″ 1/5
3	60,0	0,580°	158×10^{-4}	1′ 35″ 1/5
4	54,0	0,620°	156×10^{-4}	1′ 32″ 2/5
5	56,5	0,610°	154×10^{-4}	1′ 29″ 3/5

IV. Experiment (3. Januar 1908).

Gewicht des Hundes A: 19,000 kg.
„ „ „ B: 6,700 kg.
„ „ „ C: 17,200 kg.

2^h 45′ nachm.: Beendigung der Operation; direkte Fistel des Ductus thoracicus.

2^h 45′—3^h 15′ nachm.: Probe von normaler Lymphe (1).

3^h nachm.: Probe von normalem Blut (1).

3^h 15′—3^h 20′ nachm.: Direkte Transfusion, aus der A. Carotis von B in die V. cruralis von A, von 220 g Blut (11,57 g pro 1 kg Gewicht des Tieres).

3^h 15′—3^h 40′ nachm.: Probe von Lymphe (2).

3^h 28′ nachm.: Blutprobe (2).

3^h 50′ nachm.: Blutprobe (3).

3^h 40′—4^h nachm.: Probe von Lymphe (3).

4^h —4^h 7′ nachm.: Vornahme einer zweiten Transfusion unter Beobachtung desselben Verfahrens wie bei der ersten — von Hund C in Hund A — von 370 g Blut (19,47 g pro 1 kg Gewicht des Tieres).

4^h—4^h 24′ nachm.: Probe von Lymphe (4).

4^h 15′ nachm.: Blutprobe (4).

4^h 24′—4^h 36′ nachm.: Probe von Lymphe (5).

4^h 32′ nachm.: Blutprobe (5).

4^h 36′—4^h 55′ nachm.: Probe von Lymphe (6).

4^h 50′ nachm.: Blutprobe (6).

4^h 55′—5^h 15′ nachm.: Probe von Lymphe (7).

5^h 15′ nachm.: Blutprobe (7).

Die Resultate sind in Tabelle IV zusammengestellt.

Tabelle IV.

Laufende Nummer der Proben	Blut				Lymphe			
	Volumen der Blutkörperchen %	Gefrierpunkt Δ	Elektrisches Leitvermögen des Blutserums K 37° C	Ausflußzeit des Blutserums t 37° C	Geschwindigkeit des Ausflusses in ccm pro 1′	Gefrierpunkt Δ	Elektrische Leitfähigkeit K 37° C	Ausflußzeit t 37° C
1	43	0,600°	156×10^{-4}	1′ 22″	1,023	0°,550	154×10^{-4}	1′ 5″ 1/5
2	44	0,580°	149×10^{-4}	1′ 23″ 2/5	0,828	0°,535	151×10^{-4}	1′ 9″ 2/5
3	45,5	0,580°	150×10^{-4}	1′ 24″	0,715	0°,565	150×10^{-4}	1′ 9″ 4/5
4	47	0,540°	150×10^{-4}	1′ 25″ 1/5	0,708	0°,625	149×10^{-4}	1′ 13″ 4/5
5	49	0,535°	150×10^{-4}	1′ 26″ 3/5	1,191	0°,610	147×10^{-4}	1′ 25″
6	48	0,555°	150×10^{-4}	1′ 24″ 1/5	0,973	0°,615	148×10^{-4}	1′ 12″ 4/5
7	47	0,590°	150×10^{-4}	1′ 23″ 1/5	0,840	0°,600	148×10^{-4}	1′ 12″ 4/5

V. Experiment (25. Januar 1908).

Gewicht des Hundes A: 30,150 kg.
" " " B: 15,750 kg.
" " " C: 18,400 kg.

10h vorm.: Beendigung der Operation: direkte Fistel des Ductus thoracicus.

10h—11h 13′ vorm.: Probe von normaler Lymphe (1).

10h 30′ vorm.: Probe von normalem Blut (1).

11h 10′—11h 15′ vorm.: Direkte Transfusion, aus der A. Carotis von B in die V. cruralis von A, von 350 g Blut (11,60 g pro 1 kg Gewicht des Tieres).

11h 13′—11h 47′ vorm.: Probe von Lymphe (2), blutig.

11h 22′ vorm.: Blutprobe (2).

11h 47′—11h 55′ vorm.: Vornahme einer zweiten Transfusion unter Beobachtung desselben Verfahrens wie bei der ersten, aus der A. Carotis von B in die V. cruralis von A, 350 g Blut (11,60 g pro 1 kg Gewicht des Tieres).

11h 47′ vorm.—12h 2′ nachm.: Probe von Lymphe (3), stark blutig.

12h mittags: Blutprobe (3).

12h 12′—12h 17′ nachm.: Probe von Lymphe (4), blutig.

12h 15′ nachm.: Blutprobe (4).

12h 36′—12h 45′ nachm.: Probe von Lymphe (5), blutig.

12h 40′ nachm.: Blutprobe (5).

Tabelle V.

Laufende Nummer der Proben	Blut				Lymphe			
	Volumen der Blutkörperchen %	Gefrierpunkt Δ	Elektr. Leitf. des Blutserums K 37° C	Ausflußzeit des Blutserums t 37° C	Geschwindigkeit des Ausflusses in ccm pro 1′	Gefrierpunkt Δ	Elektrische Leitfähigkeit K 37° C	Ausflußzeit t 37° C
1	52,5	0,550°	150×10^{-4}	1′ 24″ 2/5	0,555	0°,605	162×10^{-4}	1′ 4″
2	54,5	0,570°	150×10^{-4}	1′ 24″ 4/5	0,588	0°,600	158×10^{-4}	1′ 5″ 4/5
3	59	0,600°	—	1′ 25″ 1/5	1,720	0°,600	153×10^{-4}	1′ 9″ 2/5
4	60	0,600°	150×10^{-4}	1′ 27″	5,400	0°,595	145×10^{-4}	1′ 24″ 1/5
5	62,5	0,600°	—	1′ 31″ 1/5	2,777	0°,595	148×10^{-4}	1′ 25″ 3/5
6	62	0,605°	150×10^{-4}	1′ 25″ 1/5	1,026	0°,600	153×10^{-4}	1′ 12″ 4/5
7	60	0,600°	—	1′ 25″ 1/5	1,200	0°,610	155×10^{-4}	1′ 12″ 1/5
8	57	0,600°	—	1′ 24″ 4/5	1,200	0°,620	158×10^{-4}	—
9	56	0,595°	150×10^{-4}	1′ 24″ 4/5	0,310	0°,640	158×10^{-4}	1′ 7″

1^h 5'—1^h 40' nachm.: Probe von Lymphe (6), blutig.
1^h 25' nachm.: Blutprobe (6).
2^h—2^h 20' nachm.: Probe von Lymphe (7), blutig.
2^h 10' nachm.: Blutprobe (7).
3^h—3^h 20' nachm.: Probe von Lymphe (8), blutig.
3^h 10' nachm.: Blutprobe (8).
3^h 20'—4^h 25' nachm.: Probe von Lymphe (9), blutig.
3^h 50' nachm.: Blutprobe (8).

Die Resultate sind in Tabelle V zusammengestellt.

VI. Experiment (6. März 1908):
Gewicht des Hundes A: 15,500 kg.
„ „ „ B: 20,000 kg.
„ „ „ C: 14,650 kg.

3^h 30' nachm.: Beendigung der Operation: direkte Fistel des Ductus thoracicus.
3^h 30'—4^h nachm.: Probe normaler Lymphe (1).
3^h 45' nachm.: Probe normalen Blutes (1).
4^h—4^h 7' nachm.: Direkte Transfusion aus der Carotis von B in die V. cruralis von A, 460 g Blut (29,67 g pro 1 kg Gewicht des Tieres).
4^h 40'—4^h 47' nachm.: Probe von Lymphe (2); sie ist stärker gefärbt als Probe (1).
(NB. Die Verzögerung beim Auffangen der Lymphe (2) erklärt sich daraus, daß zuerst aus dem Schlauch ein Koagulum, das ihn verstopfte, entfernt werden mußte.)
4^h 45' nachm.: Blutprobe (2).
4^h 47'—5^h 20' nachm.: Probe von Lymphe (3), dunkelgelb, mit einigen Blutspuren.
4^h 51'—5^h 3' nachm.: Vornahme einer zweiten Transfusion, unter Beobachtung desselben Verfahrens wie bei der ersten, aus der Carotis von C in die V. cruralis von A, 300 g Blut (19,35 g pro 1 kg Gewicht des Tieres).
5^h 3' nachm.: Blutprobe (3).
5^h 3'—5^h 34' nachm.: Probe von Lymphe (4); dunkelgelb, etwas blutig.
5^h 20' nachm.: Blutprobe (4).
6^h 20' nachm.: Blutprobe (5).
8^h früh, 7. März: Blutprobe (6).

Die Resultate sind in Tabelle VI zusammengestellt.

Tabelle VI.

Laufende Nummer der Proben	Blut				Lymphe			
	Volumen der Blutkörperchen %	Gefrierpunkt Δ	Elektrische Leitfähigkeit des Blutserums K 37° C	Ausflußzeit des Blutserums t 37° C	Geschwindigkeit des Ausflusses in ccm pro 1'	Gefrierpunkt Δ	Elektrische Leitfähigkeit K 37° C	Ausflußzeit t 37° C
1	49	0,570°	147×10^{-4}	1' 24" 2/5	0,317	0°,580	158×10^{-4}	1' 10"
2	53	0,620°	149×10^{-4}	1' 26"	2,000	0°,590	156×10^{-4}	1' 14"
3	55	0,655°	149×10^{-4}	1' 27" 4/5	0,742	0°,580	155×10^{-4}	1' 15"
4	60,5	0,600°	150×10^{-4}	1' 25" 1/5	0,535	0°,580	155×10^{-4}	1' 14"
5	64	0,555°	150×10^{-4}	1' 24" 3/5	—	—	—	—
6	56,5	0,560°	150×10^{-4}	1' 24" 4/5	—	—	—	—

III. Allgemeine Überlegungen und Schlußfolgerungen.

Die Wirkungen der Transfusion homogenen Blutes können betreffen: 1. die Mechanik der Blutzirkulation (Tätigkeit des Herzens, Kaliber der Gefäße, Blutdruck in ihrem Innern usw.); 2. die Bildung der Lymphe und anderer Exsudate; 3. die eventuellen Änderungen der Funktion besonderer Organe (z. B. der Drüsenorgane usw.); 4. endlich die eventuellen Veränderungen der physiko-chemischen Eigenschaften des Blutes, der Lymphe und anderer Flüssigkeiten des Tieres, an dem die Transfusion vorgenommen wird. Einige von diesen Wirkungen sind vor kurzem von R. Tigerstedt[1]) zusammengestellt worden; wir führen aus dieser Arbeit nur die Punkte an, die mit unseren Resultaten im engsten Zusammenhang stehen.

Aus den Untersuchungen von Worm-Müller[2]) ergibt sich unter anderem als allgemeine Regel, „daß der Blutdruck bei vermehrter Füllung der Gefäßhöhle seine Grenzen bei normaler Blutfüllung nicht überschreitet“. „Dagegen erschien eine nicht unbedeutende Transsudation bei den Tieren mit vermehrter Blutmenge. In der Bauch- und Brusthöhle wurden Ansammlungen von Transsudat getroffen, hin und wieder auch Ödeme. Auch war die Geschwindigkeit des Lymphstromes vergrößert[3]).“ „Die Sektion ergab keine merkliche

[1]) Ergebn. d. Physiol. 6, 303, 1907.
[2]) J. Worm-Müller, Transfusion und Plethora. Christiania 1875.
[3]) Von uns gesperrt.

Überfüllung der Arterien und nur im Unterleib eine merkbare Überfüllung der größeren Venen[1]), sonst so gut wie keine oder nur in geringem Grade." „Auf Grund dessen blieb nach Worm-Müller nur die Annahme übrig, daß das Blut den Capillaren anhaftete[2]), und er stellte sich daher vor, daß die vermehrte Blutmenge hauptsächlich dadurch im Gefäßsystem Platz gefunden hatte, daß eine größere Anzahl Capillaren als unter normalen Verhältnissen gefüllt worden war . . ."

Andere Untersuchungen stellte von Regèczy[3]) an, dem das Verdienst gebührt, „die Bedeutung des Flüssigkeitsaustritts aus dem Blute schärfer als seine Vorgänger, denen indessen die Kenntnis davon nicht ermangelte, hervorgehoben zu haben . . ."[4]) Er beobachtete, daß „das Blut nach der Transfusion konzentrierter wurde". Bei Zählung der roten Blutkörperchen nach Überleitung von Blut beobachtete Worm-Müller, daß „ein paar Stunden nach der Transfusion bereits etwa die Hälfte des eingespritzten Blutplasma durch die Gefäße ausgetreten war, andererseits war es aber durch den Befund, daß ungefähr die Hälfte der eingespritzten Blutmenge den ganzen ersten Tag nach der Transfusion im Gefäßraume geblieben, womöglich noch evidenter festgestellt, daß die im Gefäßsystem enthaltene Blutmenge durch die Transfusion bedeutend vermehrt werden kann. Diese Vermehrung geht aber allmählich zurück, und nach etwa 2 bis 5 Tagen ist die Blutmenge höchst wahrscheinlich zur Norm zurückgekehrt."

Mit den sekretorischen Wirkungen der Überleitung von Blut wollen wir uns einstweilen nicht beschäftigen; sie sollen in einer weiteren Abhandlung besprochen werden.

Wir wollen lieber einige Ergebnisse der letzten über die Transfusion angestellten Untersuchungen anführen, und zwar die von C. Tigerstedt.[5]) Nachdem er bemerkt hat, „die

---

[1]) Von uns gesperrt.

[2]) J. Worm-Müller, Transfusion und Plethora. Christiania 1875.

[3]) E. N. von Regèczy, Die Ursache der Stabilität des Blutdruckes. Pflügers Arch. 37, 73, 1885.

[4]) R. Tigerstedt, loc. cit., 305.

[5]) C. Tigerstedt, Zur Kenntnis des Kreislaufs bei vermehrter Blutmenge. Skandin. Arch. f. Physiol., 20, 3—4, 197, 1908.

von Johansson und R. Tigerstedt[1]) erwähnte Tatsache, daß die Transfusion von defibriniertem Blute auf das Kaninchen eine schädlichere Wirkung als die von physiologischer Kochsalzlösung ausübt, ist von der verschiedenen Viscosität dieser Flüssigkeit bedingt," fügt der Autor hinzu: „wird eine Flüssigkeit von hoher Viscosität, z. B. Blut, transfundiert, so bewirkt jede Zunahme des Sekundenvolumens eine Drucksteigerung, und infolgedessen wird das Herz leicht überanstrengt"; und ferner: „Nebst der vermehrten Transsudation und Sekretion macht diese Erweiterung (der Gefäße) es dem Herzen möglich, bei vermehrter Füllung der Gefäßhöhle, in welcher Weise diese auch zustande gebracht wird, die vermehrten Anforderungen zu erfüllen."

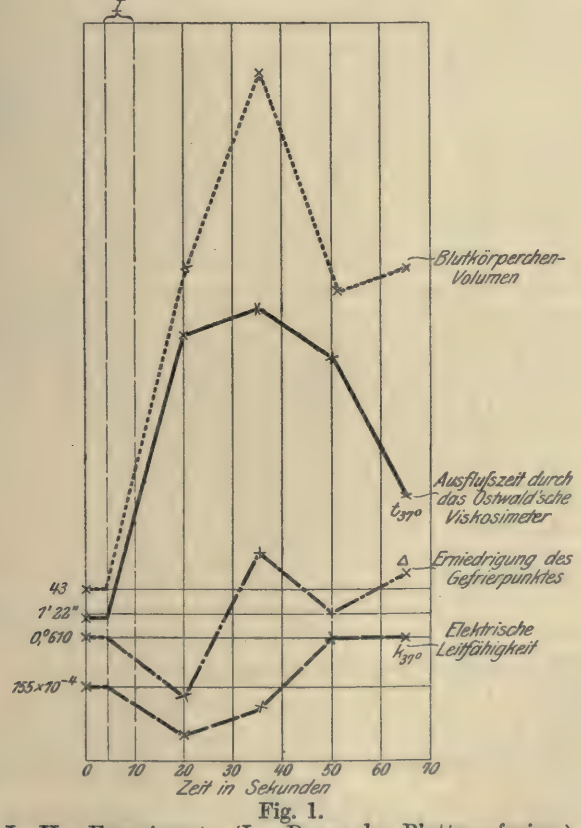


Fig. 1.
I—II. Experiment. (I = Dauer der Bluttransfusion.)

[1]) Skandin. Arch. f. Physiol., 1, 330, 1889; 2, 409, 1891.

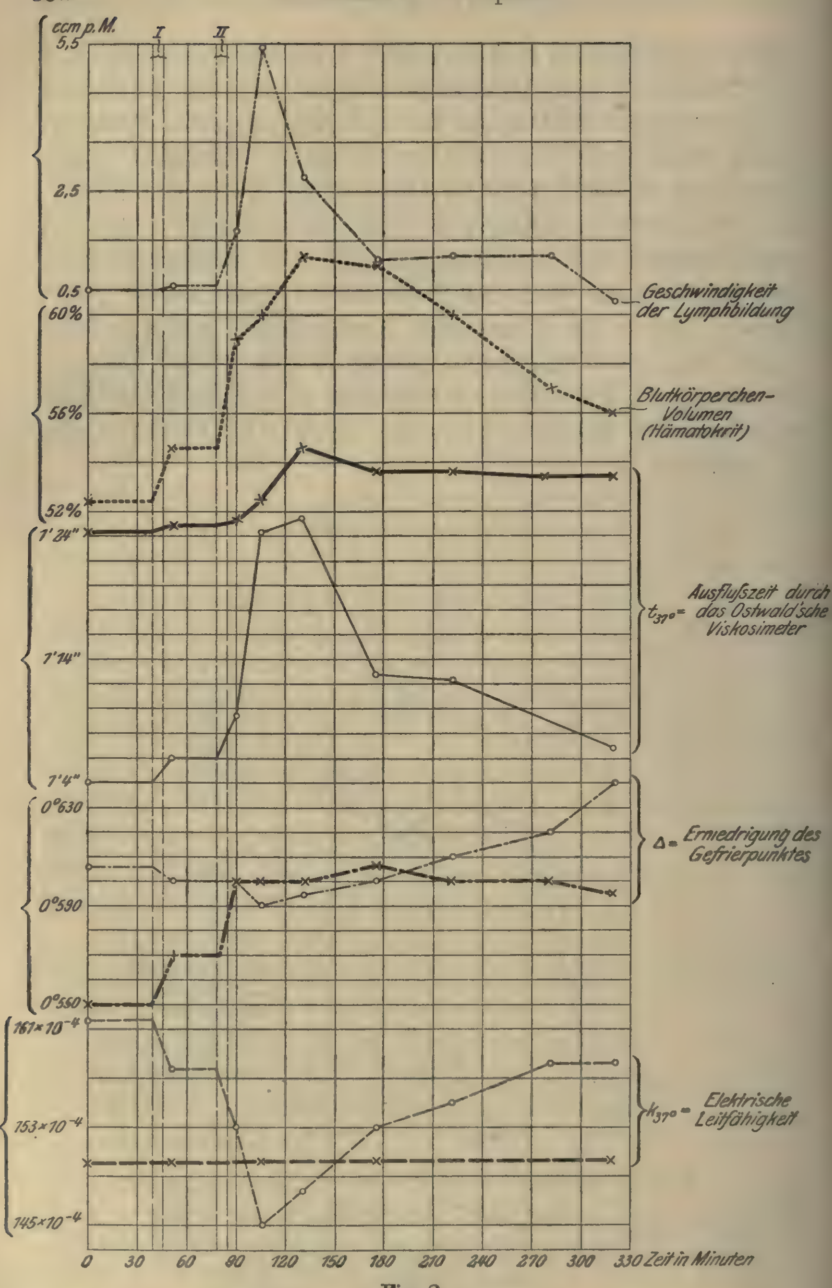


Fig. 2.

II—V. Experiment. (I = erste Bluttransfusion; II = zweite Bluttransfusion.)

— — — — Elektrische Leitfähigkeit (k_{37^0}).

—·—·— Erniedrigung des Gefrierpunktes (Δ).

——— Ausflußzeit durch das Ostwaldsche Viskosimeter (t_{37^0}).

· · · · · · · · · Blutkörperchenfolium (Hämotokrit).

—··—··— Geschwindigkeit der Lymphbildung.

Die fetten Strichelchen und Pünktchen beziehen sich auf die Blutwerte, die dünneren auf die Lymphwerte.

Aus unseren Untersuchungen ergeben sich die folgenden Tatsachen:

1. Nach direkter Transfusion von homogenem, nicht defibriniertem Blut nimmt in den ersten Stunden nach der Transfusion sowohl die Zahl der roten Blutkörperchen oder das Volumen der Körperchen in der Volumeinheit des defibrinierten Arterienblutes als auch die Lymphbildung zu. Die Zunahme ist je nach den einzelnen Fällen mehr oder weniger groß, verläuft aber parallel. In der Tat ist die schon von den oben zitierten Autoren bei verschiedener Methode beobachtete Konzentration des Blutes eine Wirkung der Transsudation von Blutplasma, d. h. der Zunahme der Lymphbildung.

2. Diese Lymphe muß durch die Capillaren der Baucheingeweide durchsickern. In der Tat beobachtete Worm-Müller Blutstasis in diesen Organen. Die Zunahme der Transsudation der Lymphe ist offenbar eine Wirkung der Zunahme des Druckes in den Blutcapillaren. Die Schwankungen der Viscosität des Blutplasmas und der Lymphe bekräftigen diese Anschauung. Wirklich ergibt sich aus unseren Untersuchungen, daß die Viscosität des Blutserums zunimmt, aber nicht so sehr wie die Viscosität der Lymphe, die in gewissen Fällen mit dem Blutserum isoviscös wird. Folglich müssen wir annehmen, daß das Transsudat aus den Capillaren nicht nur reichlich, sondern auch sehr reich an Serumproteinen ist, so daß es der aus dem Ductus thoracicus herausfließenden Lymphe, die unter normalen Bedingungen viel weniger viscös als das Blutserum ist, eine Viscosität verleiht, die der dieses Serums gleich ist. Auf diese Weise entäußert sich das Blut der Kolloide, indem es seine eigene Viscosität erniedrigt, was seine Zirkulation nur erleichtern kann. Denn letztere würde gewiß nicht so leicht vonstatten gehen, wenn die unter derartigen Bedingungen durchgesickerte Lymphe nicht so reich an Proteinen wäre. Dies macht auch eine andere der von Worm-Müller beobachteten Wirkungen verständlich, nämlich die auf die Transfusion folgende Zunahme der Erzeugung von Harnstoff. Wenn der in größerer Menge erzeugte Harnstoff wirklich von den transfundierten Proteinen stammt, da seine Bildung nur in den Geweben (Leber usw.) stattfinden kann,

so ist dazu nötig, daß die Proteine zu den Zellen der Gewebe gelangen: die Lymphe ist es, die sie hinträgt.

3. Unsere Untersuchungen beweisen ferner, daß, während der osmotische Druck und die elektrische Leitfähigkeit des Blutserums gar nicht oder wenig schwanken, die Lymphe dagegen stets eine Erhöhung des osmotischen Druckes sowie eine Abnahme der elektrischen Leitfähigkeit zeigt.

Die erste Erscheinung ist leicht zu erklären, wenn man bedenkt, daß bei unseren Experimenten stets homogenes Blut transfundiert wurde, dessen Serum deshalb einen osmotischen Druck und eine elektrische Leitfähigkeit hatte, die denen des Blutserums des der Transfusion unterzogenen Tieres annähernd gleich waren. Auch konnte die gesteigerte Transsudation des Plasmas keine beträchtlichen Veränderungen des osmotischen Druckes und der elektrischen Leitfähigkeit hervorrufen; das durchgesickerte Plasma war ja in geringer Menge im Vergleich zu der Gesamtmasse des Residualblutes vorhanden, und letzteres riß eine große Menge von Proteinen mit sich fort, d. h. es war ein Plasma vorhanden, das in seiner prozentualen Zusammensetzung wenig verändert war. Die Erhöhung des osmotischen Druckes der Lymphe kann zum Teil von ihrem größeren Gehalt an Proteinen herrühren, zum größeren Teil von nicht elektrolytischen Körpern, die sich in den Geweben bilden, wahrscheinlich vom Harnstoff.

Endlich kann die Abnahme der elektrischen Leitfähigkeit der Lymphe einfach als Wirkung ihres relativen größeren Gehaltes an Kolloiden und an nicht elektrolytischen Körpern betrachtet werden.

4. Die Bedingungen, unter denen die drei ersten Versuche gemacht wurden, unterscheiden sich bedeutend von denen der drei letzten; denn während bei den ersteren die Zirkulation der Lymphe keine Störung erlitten hatte, gestattete bei den letzteren die Fistel des Ductus thoracicus, daß die Lymphe aus dem Organismus ausschied. Deshalb sollte man erwarten, bedeutende Unterschiede in den Resultaten zu finden, die das Blut der der Transfusion unterzogenen Tiere betreffen; diese Unterschiede existieren aber nicht, oder, besser gesagt, sie sind nicht konstant und geeignet, die Vermutung zu erregen, daß sie die Wirkung der verschiedenen experimentellen Be-

dingungen seien. Dies kann uns übrigens nicht wundern, wenn wir bedenken, daß die durch den Ductus thoracicus fließende Lymphe nur ein kleiner Teil des ganzen Plasmatranssudates der verschiedenen Capillargebiete ist.

Nur ein Unterschied scheint der Erwägung wert zu sein; vergleicht man den Abstand zwischen dem minimalen und dem maximalen Wert der Ausflußzeit des Blutserums bei den einzelnen Experimenten, so bemerkt man, daß er in den Fällen, in denen die Lymphe des Ductus thoracicus sich nach außen ergoß, geringer ist als in den Fällen, in denen bei dem Tier keine Fistel angelegt worden war. In der Tat beträgt der Unterschied zwischen dem maximalen und dem minimalen Wert von *t* in den drei ersten Fällen 12″, 13″ und 13″, während er in den drei letzten Fällen 4″, 7″ und 3″ beträgt. In diesen letzten Fällen wurde das Blutserum arm an Kolloiden, an den Kolloiden, die mit der Lymphe nach außen abflossen; und das ist vielleicht die Ursache des beobachteten Unterschiedes.

5. Von Wichtigkeit ist die Betrachtung des zeitlichen Verlaufes der nachgewiesenen Schwankungen. Wir wollen ein jedes der sechs Experimente der Reihe nach besprechen.

I. Experiment. Das Volumen der Körperchen erreicht nach und nach ein Maximum (62), dann nimmt es ab. Ähnlich verhält es sich mit der Ausflußzeit des Blutserums. Die elektrische Leitfähigkeit des letzteren nimmt ab und erreicht ein Minimum; dann beginnt sie wieder in die Höhe zu gehen. Das Maximum des Volumens der Körperchen fällt mit dem Maximum der Ausflußzeit des Blutserums zusammen und die beiden Maxima mit dem Minimum der elektrischen Leitfähigkeit.

II. Experiment. Auch beim II. Experiment fällt das Maximum des Volumens der Blutkörperchen mit dem Maximum der Ausflußzeit des Blutserums und mit dem des osmotischen Druckes des defibrinierten Blutes zusammen; das Minimum der elektrischen Leitfähigkeit des Blutserums scheint in diesem Falle den genannten Maximalwerten etwas vorauszugehen.

III. Experiment. Das Maximum des Volumens der Blutkörperchen fällt wieder mit dem der Ausflußzeit des Blutserums zusammen.

IV. Experiment. Dieselbe Beobachtung wurde beim IV. Ex-

periment gemacht; auffallenderweise fällt hier mit diesen Maxima des Volumens der Blutkörperchen und der Ausflußzeit des Blutserums das Minimum des osmotischen Druckes zusammen.

V. Experiment. Das Maximum des Volumens der Blutkörperchen (62,5) und das Maximum der Ausflußzeit des Blutserums (1′ 31″ $^{1}/_{5}$) fallen zusammen; gleich darauf folgt das Maximum des osmotischen Druckes.

VI. Experiment. Das Maximum des Volumens der Blutkörperchen (64) fällt nicht mit dem Maximum der Ausflußzeit des Blutserums zusammen; letzteres fällt mit dem Maximum des osmotischen Druckes zusammen.

Mit Ausnahme des VI. Experimentes wurde also bei allen anderen beobachtet, daß die größte Konzentration des Blutes (Vermehrung der roten Blutkörperchen dem Plasma gegenüber) und die größte Konzentration in Kolloiden des Blutserums gleichzeitig nach und nach erreicht wurden. Sie nahmen dann im allgemeinen ab, ohne jedoch während der Dauer der einzelnen Experimente zu den (normalen) Anfangswerten zurückzukehren. In der Mehrzahl der Fälle fiel das Maximum des osmotischen Druckes des Blutserums mit dem des Volumens der Blutkörperchen und mit dem Maximum der Ausflußzeit zusammen.

6. Wenn wir bezüglich der Lymphe dieselbe vergleichende Untersuchung anstellen, so beobachten wir, daß das Maximum ihrer Ausflußzeit annähernd mit dem Maximum der Geschwindigkeit ihrer Erzeugung (Geschwindigkeit des Ausflusses durch den Ductus thoracicus) zusammenfällt. Der osmotische Druck und die elektrische Leitfähigkeit der Lymphe zeigen keinen regelmäßigen Verlauf; zuweilen gehen ihre Maxima denen der Geschwindigkeit und der Zeit des Ausflusses voraus, zuweilen folgen sie ihnen.

7. Vergleichen wir endlich die Lymphe mit dem Blutserum, so sehen wir, daß die Maxima ihrer Viscosität (Ausflußzeit) zusammenfallen. Nur in einem Falle (V. Experiment) wird die maximale Viscosität der Lymphe fast gleich der des Blutserums. In den anderen Fällen ist, wie wir bereits erwähnten, die relative Zunahme der Viscosität der Lymphe größer als die der Viscosität des Blutserums.

Ein Kryoskop.

Von

M. C. Dekhuyzen, Utrecht.

Mit 5 Figuren im Text.

Namentlich für den Physiologen wäre ein Apparat, welcher schnelle und genaue Gefrierpunktsbestimmungen an verhältnismäßig kleinen Flüssigkeitsmengen zu machen erlaubt, sehr erwünscht. Sein Material fließt ihm in geringen Quantitäten, vielfach unregelmäßig zu und verdirbt schnell. Man denke an das Arbeiten an Küstenstationen und an Bord von zum Fischfang ausgerüsteten Dampfern. Für die Kautelen der sogenannten Präzisionskryoskopie (Raoult u. a.) ist dort keine Gelegenheit.

Vom Beckmannschen Kryoskop ausgehend, gelang es, einen Apparat zu bauen, der sich auf einer kleinen Expedition auf der Zuidersee im Sommer 1905 gut bewährte. Derselbe ist in der Patentschrift Nr. 193077 beschrieben und abgebildet. Bei der Bearbeitung der Ergebnisse dieser Expedition mußten die physikalischen Konstanten des Kryoskops bestimmt werden. Dabei stellte sich heraus, daß die Wärmeisolierung des Kühlbades gegen die äußere Umgebung und gegen das Gefrierbad verbessert werden mußte, und es wurden zu diesem Zweck noch zwei Außengefäße herumgelegt, während der einfache Luftmantel durch ein Dewarsches Gefäß ersetzt wurde.

Theoretisches.

Benutzt wird das Rüdorffsche Prinzip der Unterkühlung und Impfung. Wir verdanken bekanntlich die Theorie des Vorgangs, der sich im Gefrierbad vor und nach dem Impfen abspielt, den Betrachtungen Nernsts in einer mit Abegg zusammen veröffentlichten Abhandlung: Zeitschr. f. physikal. Chem. **15**, 682, 1894. Dieselben führen zu einer Formel[1]), welche ich

---

[1]) $t' = T_0 - \frac{k}{K}(t' - t_0)$

in etwas abgeänderter Gestalt und mit leichter ins Gedächtnis einzuprägenden Buchstaben wiedergeben möchte:

$$t_w = t_s + \frac{k_a}{K_E}(t_s - t_c). \qquad (1)$$

Hierin bezeichnet t immer die Temperatur, und zwar wird der Nullpunkt weit unterhalb der Gefrierpunkte der betrachteten Lösung und des Kühlbades gelegt. Man könnte die absoluten Temperaturen nehmen. Der Zweck ist aber nur, Irrtümern vorzubeugen, welche sich leicht einschleichen, wenn der Gefrierpunkt des Wassers, d. h. der Nullpunkt der Temperatur allerlei Stellungen zu t_c, t_w und t_s einnehmen kann. Wir wählen

$$t_w > t_s > t_c > 0,$$

wo 0 nicht 0° C, sondern irgendeine niedere Temperatur bedeutet.

Mit t_w ist nämlich der wahre Gefrierpunkt bezeichnet, d. h. diejenige Temperatur, bei der das unendlich feine und gleichmäßig durch die Flüssigkeit verteilte Eis mit derselben im Gleichgewichte ist, t_s ist der scheinbare (abgelesene) Gefrierpunkt, t_c die „Konvergenztemperatur", d. h. diejenige, der die Lösung zustreben würde, wenn kein Gefrieren stattfände, k_a ist eine Konstante, und zwar in der Hauptsache eine Apparatskonstante, welche die Geschwindigkeit zu berechnen gestattet, mit der ein Temperaturgleichgewicht zwischen Gefrierbad (im Luftmantel) und Kühlbad angestrebt wird, K_E endlich ist eine Größe, welche die Geschwindigkeit zu berechnen gestattet, mit der sich das Eis in der unterkühlten Lösung bildet, bzw. wieder gelöst wird.

Nernst schließt folgenderweise. Die Geschwindigkeit der Temperaturänderung des im Luftmantel befindlichen Gefrierbades ist, wenn z die Zeit, t die Temperatur im betrachteten Augenblick bezeichnet:

$$-\frac{dt}{dz} = k_a(t - t_c). \qquad (2)$$

Wir schreiben $-\frac{dt}{dz}$, indem wir das Sinken als eine Bewegung in negativer Richtung betrachten, das Ansteigen als eine Bewegung in positiver Richtung.

Das ist die Newtonsche Gleichung. Dieselbe läßt sich experimentell leicht bestätigen, indem man etwa jede Minute

den Stand des Thermometers abliest. Im neuen Apparat ist t_c die praktisch genügend konstant zu haltende Temperatur des Kühlbades. Rührt man, etwa 2 bis 4 Schläge pro Minute, die 50 ccm Flüssigkeit des Gefrierbades, so erfolgt das Sinken des Thermometers ziemlich regelmäßig nach dem Newtonschen Gesetz. Man führt aber in dieser Weise eine nicht zu vernachlässigende Menge Wärme zu, weil man Luft von Zimmertemperatur in das Gefriergefäß einpumpt. Rührt man nicht so ist der Gang des Thermometers unregelmäßiger, und muß man größere Intervalle studieren. Zur Berechnung von k_a muß man die unten zu besprechende Gleichung

$$k_a = \frac{1}{z_2 - z_1} \log \text{nat} \frac{t_1 - t_c}{t_2 - t_c}$$

benutzen.

Ich habe einige Zeit bezweifelt, ob die Beziehung (2) auch bei einer unterkühlten, gefrierenden und ohne Zufuhr und Erzeugung von Wärme stark gerührten Flüssigkeit gelte. Ich möchte diese Bedenken nicht verschweigen, obgleich ich von vornherein zugebe, daß die ideellen Umstände, für welche die theoretischen Betrachtungen gelten würden, experimentell nicht zu verwirklichen sind.

Die Newtonsche Gleichung (2) beschreibt die Geschwindigkeit der Temperaturänderung in dem Fall, daß der Wärmeverlust dem Sinken der Temperatur direkt proportional ist, und daß die Temperatur in der Flüssigkeit durch Rühren ohne Zufuhr und Erzeugung von Wärme absolut gleichmäßig gehalten wird. Eigentlich sollte sie heißen:

$$-\frac{dQ}{dt} = k_a (t - t_c), \tag{3}$$

wo dQ die in dem Zeitdifferential transportierte Quantität Wärme bezeichnen soll.

Unendlich fein verteiltes Eis in Wasser von 0°, welches ohne Zufuhr und Erzeugung von Wärme genügend stark gerührt wird, ist aber das ideale Mittel, um die Temperatur konstant auf 0° zu halten. Das ist eben die Definition von 0° C.

Fig. 1 zeigt den langsamen Gang des Thermometers AA_1BD in einem Gefrierbad aus reinem Wasser bei einem, nicht einmal ganz guten, Dewarschen Luftmantel, wenn keine Eisbildung eintritt. Es ist dies eine logarithmische Kurve, die

sich der Konvergenztemperatur asymptotisch nähert. In der Figur steht irrtümlich mehrere Male t_w (des Kühlbades), dies soll t_c heißen. Impft man aber, oder gefriert das Wasser spontan, so ist der Verlauf $A A_1 B C E$, und man hat mit dem Teil BD der

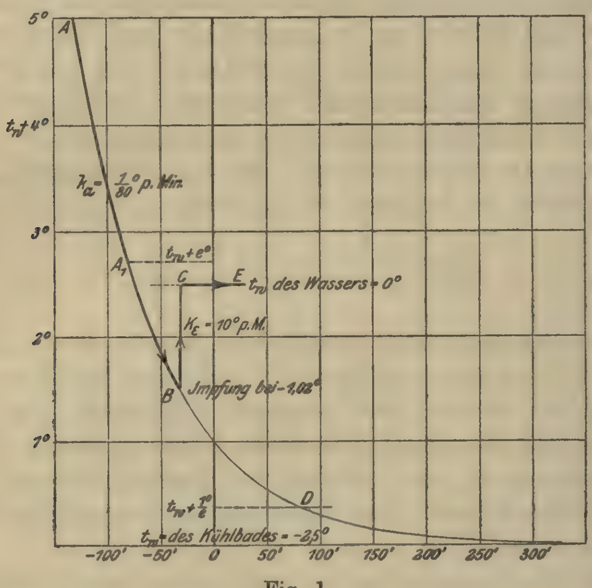


Fig. 1.

Kurve theoretisch nur dann etwas zu tun, wenn man berechnen will, wieviel Eis sich bilden muß, um die Temperatur des Gefrierbades auf 0° C zu bringen und zu halten. Bei unterkühlten wässerigen Lösungen aber, deren Gefrierpunkt sich während des Gefrierens, wegen der Steigerung der Konzentration, verändert, ist dies von Interesse. Impft man das destillierte Wasser bei 0°, so wird die logarithmische Kurve durch eine gerade Linie ersetzt: das Gefrierbad gefriert ganz bei 0°, und erst wenn dieser Vorgang beendet ist, kühlt sich die Eismasse nach Gleichung (2) ab und nähert sich t_c asymptotisch.

Dies ist aber, wie gesagt, nicht zu verwirklichen: um die logarithmische Kurve einigermaßen, um die Gerade aber nicht. So fein können wir das Eis nicht im Wasser verteilen, daß die Mischung nicht zu unterkühlen und nicht zu überhitzen wäre. Rührt man nicht und verhindert man möglichst Schwingungen in der Flüssigkeit, so läßt sich ein mit feinsten Eiskrystallen durch-

setztes Wasser recht gut unterkühlen: ich beobachtete z. B. bei $k_a = 0{,}008^0$ pro Grad pro Minute und $t_c = -3^0$ ein Sinken bis $t_s - 0{,}055^0$, dann stieg das Thermometer spontan auf $t_s - 0{,}01^0$ und fing dann wieder zu sinken an.[1]) Daß ein mit feinsten Eiskrystallen durchsetztes Wasser leicht $^1/_{80}$ zu überhitzen ist, wird sich aus den unten mitgeteilten Beobachtungen ergeben.

Ich muß also der Schlußfolgerung Nernsts beistimmen, daß unter den experimentell zu verwirklichenden Umständen die Gleichung (2) auch während des Gefrierens zutrifft.

Nernst setzt die Temperaturänderung nach dem Impfen in jedem Augenblick der Entfernung von der wahren Gefriertemperatur proportional:

$$\frac{dt}{dz} = K_E (t_w - t). \tag{4}$$

K_E ist der Gesamtoberfläche des Eises direkt proportional, ebenso der Schmelzwärme. Je mehr Wärme bei der Ausscheidung der Gewichtseinheit Eis produziert wird, um so rascher wird die Temperatur der Flüssigkeit ansteigen. K_E strebt vielleicht einem konstanten Werte zu. Nach dem Impfen steigt sie zuerst ganz langsam, dann sehr schnell an (eine „latente“ Periode sehr variabler Dauer ist immer zu beobachten), dann geht sie, wahrscheinlich aber größtenteils nur scheinbar, herunter: Fig. 5. Es dürfte dies dem Mangel an Rühren zuzuschreiben sein, rührt man aber, so führt man Wärme zu.

Man darf daher, strenge genommen, nicht integrieren, als ob K_E eine Konstante wäre. Sieht man hiervon, in erster Annäherung, ab, so kommt man zu einer logarithmischen Kurve von der Gleichung

$$-t' = e^{-K_E z} \tag{5}$$

d. h. irgendeine der Kurven, wie in Fig. 2 mehrere gezeichnet sind.

---

[1]) Ein Beweis, daß unterkühltes Wasser mit Eis in Berührung sein kann, ohne daß es gleich zur allgemeinen Eisbildung kommt, ist folgenderweise zu liefern. Man nehme ein Gefriergefäß mit flachem Boden und einen Rührer, dessen Platinring sich genau dem Glase anschmiegt. Bei langsamer Abkühlung kommt vor, daß die allgemeine Eisbildung erst im Augenblick eintritt, wo man den Rührer zu heben sucht: derselbe ist dann aber bereits am Boden festgefroren.

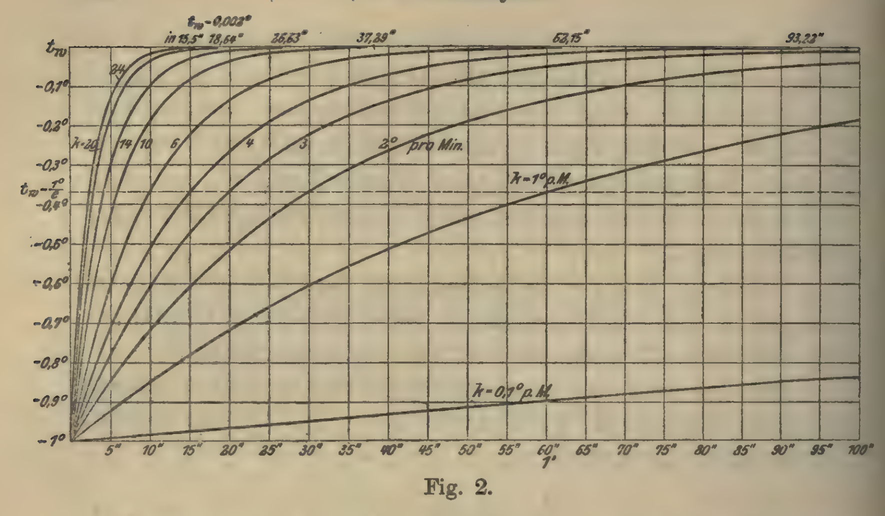


Fig. 2.

Nennt man $t_w - t = -t'$ (—, weil wir auf der negativen Seite der Y-Achse sind), so ist

$$\frac{dt'}{dz} = -K_E t'$$

$$-\frac{dt'}{t'} = K_E dz,$$

oder bei $K_E =$ Konstante

$$-\int \frac{dt'}{t'} = K_E \int dz$$

$$-\log \text{nat}\, t' = K_E z + C$$

$$-e^{-K_E z - C} = t',$$

da doch dem t' jetzt wieder das —Zeichen vorgesetzt werden muß. Wir legen den Nullpunkt der Zeit an den Punkt, wo $t' = -1$ wird. C ist dann $= 0$.

Der Gang des Thermometers nach dem Impfen ist eine Kurve, welche in erster Annäherung als eine Kombination von logarithmischen Kurven $-t' = e^{-K_E z}$ mit stetig sich änderndem Werte für K_E betrachtet werden kann. Hierbei ist die Wirkung des Kühlbades noch nicht in Betracht gezogen.

Man integriert dann faktisch über einen kleinen Teil der Kurve, auf dem man K_E in erster Annäherung als eine Konstante betrachten darf.

Experimentell wird K_E gemessen, indem man die Zeitpunkte bestimmt, an denen gewisse Punkte der Skala durch-

laufen werden. Die Koordinaten des ersten Punktes seien z_1 (gerechnet vom Augenblick, daß $t_w - 1^0$ passiert wird), und $-t_1'$, die des zweiten Punktes z_2 und $-t_2'$. Man hat dann

$$-t_1' = e^{-K_E z_1}$$

$$\text{oder} \quad t_w - t_1 = e^{-K_E z_1},$$

$$\text{d. h.} \quad K_E z_1 = -\log(t_w - t_1) \tag{6}$$

und für den zweiten Punkt

$$K_E z_2 = -\log(t_w - t_2). \tag{7}$$

Subtrahierend (6) von (7) (weil $z_2 > z_1$)

$$K_E(z_2 - z_1) = \log \frac{t_w - t_1}{t_w - t_2}. \tag{8}$$

Diese Gleichung kann man praktisch benutzen zur Ableitung von K_E aus der beobachteten Kurve. Allein ist dabei nicht in Betracht gezogen, daß die Abkühlung nach der Gleichung (2) während des Gefrierens fortfährt.

Der wirkliche Gang der Temperatur beim Gefrieren einer begrenzten Menge ergibt sich nach Nernst durch die Superposition von (2) und (4).

$$\frac{dt}{dz} = K_E(t_w - t) - k_a(t - t_c). \tag{9}$$

Nennen wir $K_E + k_a = S$ und $K_E t_w + k_a t_c = A$, so ist

$$\frac{dt}{A - St} = dz$$

und, weil

$$\frac{1}{A - St} = \frac{dl(A - St)}{d(A - St)} = \frac{dl(A - St)}{-S dt}$$

oder

$$-\frac{S dt}{A - St} = -S dz = dl(A - St),$$

integrierend:

$$l(A - St_1) = -S z_1 + C \tag{10}$$

$$l(A - St_2) = -S z_2 + C \tag{11}$$

und subtrahierend (10) von (11), erhält man

$$S(z_2 - z_1) = l(A - St_1) - l(A - St_2)$$

oder

$$(K_E + k_a)(z_2 - z_1) = \log \text{nat} \frac{K_E t_w + k_a t_c - (K_E + k_a) t_1}{K_E t_w + k_a t_c - (K_E + k_a) t_2}$$

$$= \log \text{nat} \frac{K_E(t_w - t_1) - k_a(t_1 - t_c)}{K_E(t_w - t_2) - k_a(t_2 - t_c)} \tag{12}$$

Mit dieser Gleichung ist praktisch kaum zu arbeiten, weil dieselbe die zu bestimmende Größe K_E zweimal enthält: als solche, und unter dem Logarithmenzeichen. Man wünscht ja die Veränderungen von K_E kennen zu lernen, muß also zwei Werte t_1 und t_2 wählen, welche so dicht beeinander liegen, daß K_E während der Zeit $z_2 - z_1$ sich nicht geändert hat, und welche doch noch weit genug auseinander liegen, um t_w mit genügender Genauigkeit berechnen zu können.

Man benutze die Gleichung (9), indem man die beobachteten Geschwindigkeiten der Temperaturänderung pro Minute als $\frac{dt}{dz}$ betrachtet. Es ist dies erlaubt, solange die Steigung gleichmäßig verläuft. Etwa 20″ nach dem Impfen steigt das Thermometer rasch und gleichmäßig, $t_w - t$ ist dann noch relativ groß, das Glied $K_E(t_w - t)$ überwiegt, weil K_E etwa 1 bis 10, k_a etwa 0,01 ist. Nahe beim (scheinbaren) Nullpunkt verzögert sich der Gang des Thermometers immer mehr: $t_w - t$ ist klein, $t - t_c$ groß, beide Glieder sind von der nämlichen Ordnung geworden, $\frac{dt}{dz}$ ändert sich jeden Augenblick: dann müßte (12) benutzt werden.

Nernst leitet nun die Formel (1) ab, indem er die Gleichung (9) auf die Endtemperatur t_s bezieht.

$\frac{dt}{dz}$ muß beim scheinbaren Gefrierpunkt $= 0$ sein, also:

$$\frac{dt}{dz} = K_E(t_w - t_s) - k_a(t_s - t_c) = 0$$

oder

$$t_w = t_s + \frac{k_a}{K_E}(t_s - t_c). \tag{1}$$

Hier ist für K_E der Wert zu nehmen, welcher am Ende des Gefrierens erreicht wird.

Jedenfalls läßt sich hieraus entnehmen, daß die Bestimmung des Nullpunktes mittels Unterkühlung und Impfung immer auf einen scheinbaren Nullpunkt führt, der um so viel unter 0^0 C liegt, als das Korrektionsglied $\frac{k_a}{K_E}(t_s - t_c)$ beträgt.

Es gilt nun erstens, den Wert dieses Gliedes in jedem

einzelen Fall zu bestimmen, und zweitens, diesen Wert auf ein Minimum zu reduzieren.

Zur Prüfung der Zuverlässigkeit unserer kryoskopischen Methoden und der Kryoskope selbst gibt es, soviel ich sehe, kaum ein besseres Mittel als die Bestimmung der Lage des scheinbaren Nullpunktes unter verschiedenen Umständen. Wir haben dann als festen Punkt t_w. Man soll eine große Flasche mit Luft geschütteltes destilliertes Wasser vorrätig halten, damit man vom wechselnden Gehalt an Gasen (CO_2!) unabhängig ist. Ich ziehe dies dem jemaligen Auskochen vor, weil es während der Messungen doch mehr oder weniger Luft aufnimmt.

k_a ist leicht zu messen, t_c im neuen Kryoskop praktisch genügend konstant zu halten. Ich habe eine große Zahl von Messungen ausgeführt, um die Veränderungen von K_E nach dem Impfen kennen zu lernen, indem der Gang des Thermometers nach Donders indirekt registriert wurde. Benutzt man immer Wasser, so ergibt jede Bestimmung des scheinbaren Nullpunktes eine Gleichung (1), in der K_E die einzige Unbekannte darstellt.

Es besteht die Neigung, das Korrektionsglied möglichst klein zu machen, indem man $t_s - t_c$ auf ein Minimum reduziert (Nernst und Abegg, Raoult u. a.). Wenn aber das Kühlbad nicht viel kälter als 0^0 gemacht wird, so kann man nur wenig unterkühlen, es bildet sich also wenig Eis, K_E wird sehr klein. Nernst und Abegg haben diesem Übelstande vorgebeugt, indem sie die Salzlösung in eine größere Quantität Wasser einpipettierten, in dem eine große Menge feines Eis vorher erzeugt war.

Wenn man schnelle und genaue Gefrierpunktsbestimmungen machen will, muß man ziemlich stark unterkühlen, sonst bekommt man nicht genug Eis, und das Temperaturgleichgewicht bei t_s wird viel zu wenig stabil gegen die schädlichen Einflüsse des Rührens und die Mängel der Wärmeisolierung. Ich unterkühle etwas mehr als 1^0 und benutze Kühlbäder von $-2{,}5$ bis -3^0 für die meist vorkommenden Bestimmungen (Blut, Milch usw.) wo Δ ungefähr $-0{,}6^0$ ist. Wir haben dann für k_a etwa den Wert $0{,}01^0$ pro Grad pro Minute (d. h. wenn das Kühlbad 1^0 kälter ist als das Gefrierbad, so sinkt die Tempe-

ratur des letzteren um 0,01° pro Minute, also bei Gefrierbad 0° und Kühlbad — 2,5 : 0,025 pro Minute). Diese geringen Werte für k_a (der bis 0,008 herabgehen kann) verdanken wir dem Dewar-Gefäß. K_E hat Werte von der Ordnung 4 bis 8° pro Grad pro Minute, das Korrektionsglied ist mithin etwa 0,004°. Dabei ist aber jede Gefrierpunktsbestimmung zu verwerfen, bei der das Thermometer abnorm langsam gestiegen ist: wenn zwischen Impfung und Erreichung des scheinbaren Gefrierpunktes viel mehr als zwei Minuten liegen, so tut man besser, die Messung zu wiederholen. K_E kann nämlich auf Werten unterhalb | heruntergehen. In der Praxis kann man doch nicht immer die Apparate zur Hand haben, zur Bestimmung von K_E durch Registration.

K_E ist der $^2/_3$-Potenz der Unterkühlung ungefähr proportional. K_E ist verhältnismäßig am größten, wenn es gelingt, das Impfeis bis an den Boden des Gefrierrohres zu bringen, ohne daß es sich vom Platinring des kleinen Rührers ablöst. Dazu ist erforderlich, daß die Stelle, wo das Impfeis an dem Platinring gerieben wird, also die innere Mündung des seitlichen Impfstutzens des Gefrierrohrs möglichst kalt gehalten wird. Sonst impft man mit einem halbgeschmolzenen Eisbrei, welcher sich gleich vom Platinring ablöst und an der Oberfläche des Gefrierpunktes schwimmen bleibt. Dann dauert die latente Periode lange, und das Thermometer steigt sehr langsam, zuweilen dreimal so langsam als bei gelungenen Impfungen, K_E ist dann abnorm klein. Zum Kühlhalten der Impfstelle ist eine Luftkammer mit Eisbehältern angebracht.

Das Prinzip zur Herstellung Kühlbäder praktisch konstanter Temperatur.

Wir haben K_E ganz in der Hand, weil diese Größe der Gesamtoberfläche des Eises direkt proportional ist.

Das praktisch konstante Kühlbad beruht auf dem Prinzip, daß Eis und Salzlösung sich mit überraschend geringer Geschwindigkeit im Temperaturgleichgewicht setzen, wenn die Oberfläche des Eises möglichst reduziert und das Rühren auf das Notwendige eingeschränkt wird.

Man kann die Apparatskonstante k_a eines Kühlbades leicht auf einen sehr niedrigen Wert bringen, indem man dasselbe vorzüglich von der Wärme der Umgebung isoliert. Für den gewöhnlichen Gebrauch benutze ich nur ein Außengefäß, für physikalische Messungen deren drei. Bedeckt man die oberen Teile des Kryoskops mit Watte und bindet man irgendeine Hülse um dieselben herum, so kann man k_a auf 0,00004° pro Grad pro Minute bringen. Ein sehr wichtiges Element ist eine trockene Atmosphäre im Laboratorium. Ein gut verpacktes Kryoskop kann 12 Stunden auf — 3° erhalten werden. Freilich beeinträchtigt diese sorgfältige Wärmeisolierung die Arbeitsfähigkeit des Instruments. Für gewöhnliches Arbeiten muß man sich mit viel größeren Werten von k_a des Kühlbades begnügen.

Wenn wir nun in einem gut isolierten Gefäß eine konzentrierte Kochsalzlösung mit ganz groben Eisstücken (von etwa 150 g) zusammenbringen und dieselben vorher unter dem Strahl der Wasserleitung abspülen, so daß sie sich abglätten, dann bekommt K_E einen so geringen Wert, daß der Gang der Temperatur im Kühlbade nicht länger durch die Geschwindigkeit der Eislösung beherrscht wird, sondern durch die Wärmezufuhr aus der Umgebung. Obgleich Eis und Salzlösung bei einer Temperatur in Berührung sind, welche 0,4° und mehr oberhalb des Gefrierpunktes der betreffenden Lösung liegt, sinkt die Temperatur nicht, sondern steigt allmählich.

Beispiel: Das Kühlbad war folgenderweise bereitet: 3 Liter NaCl-Lösung von 1,057 spez. Gew. $^{15}/_{15}$ (also je 8,4375 g NaCl auf je 100 g H_2O) und 9,9° wurden mit 1,8 kg groben Eisstücken und 0,430 feingeklopftes Eis gerührt. Um 11,12′ war die Temperatur, nachdem 6 Schläge mit dem großen Rührer dieselbe gleichmäßig gemacht hatten, — 3,68.

11,14′ wurden 100 ccm Flüssigkeit auspipettiert, auf 15° erwärmt und das spez. Gew. mittels einer genau ajustierten hydrostatischen Wage auf 1,0450 oder 1,0452 bestimmt: es sind mithin 6,625 g NaCl auf je 100 g H_2O vorhanden: eine Lösung, deren Gefrierpunkt ungefähr bei — 3,90 liegt.

11,29′ war die Temperatur unten im Bade — 3,68°; (der große Rührer hält die groben Eisstücke in der Tiefe); oben, wo beim Pipettieren die Wattebekleidung gelockert werden mußte,

— 3,55°, nach einem Schlag mit dem großen Rührer ist die Temperatur unten — 3,48, nach einem zweiten Schlage — 3,50°. Dies genügte wohl zur Vermischung der Flüssigkeitsschichten, mehrmaliges Rühren würde Eis schmelzen lassen und die Temperatur unnötig erniedrigen.

11,58′ zeigt das Thermometer unten — 3,38, oben — 3,28; 1 Schlag mit dem großen Rührer: — 3,38, noch 1 Schlag: — 3,39, — 3,44, — 3,46, — 3,48, — 3,52; noch 1 Schlag: — 3,48. Die Zimmertemperatur war 14°. In 29° ist das Kühlbad also von — 3,50° auf — 3,48° gestiegen. Das Kühlgefäß war von 3 Außengefäßen, also von 3 Glaswänden und 3 Luftmänteln umgeben, die oberen Teile des Kryoskops waren mit Watte bedeckt, und diese wurden durch eine Papierhülse zusammengehalten.

Man berechnet also:

$$k_a = \frac{1}{29} \log \text{nat} \frac{17{,}50}{17{,}48} = \frac{2{,}3}{29} \log_{10} \frac{17{,}50}{17{,}48} = \frac{2{,}3}{29} \times 0{,}0005$$

$$= 0{,}00004^0 \text{ pro Grad pro Minute.}$$

Die Anfangstemperatur des Kühlbades hängt ab: von der Konzentration und der Temperatur der Stammlösung, von der Menge und namentlich von der Gesamtoberfläche des Eises und schließlich vom Rühren. Der Verlauf der Temperatur hängt ab: von der Wärmeisolation, dem Rühren und der dem Apparat auferlegten Arbeit. Man muß es nun so einrichten, daß man vom Kühlbade viel weniger fordert, als es zu leisten imstande wäre. Man bewahre die Stammflüssigkeit, eine 8 %ige Kochsalzlösung, möglichst kühl auf, sonst muß man zu viel Eis schmelzen, bevor die verlangte Temperatur erreicht wird, und das Bad ist zu schnell erschöpft. Ich benutze immer eine $8^0 P_{0D}$ NaCl-Lösung (für die Bedeutung dieser Zeichen siehe unten), welche bei 15° ein spez. Gew. von 1,0542, verglichen mit Wasser von 15°, hat und genau 8,000 g reines NaCl auf 100,00 g H_2O enthält (die Gewichte auf das Vakuum reduziert).

3 Liter dieser Stammflüssigkeit werden mit 1,8 kg grobes Eis gerührt, dann noch 0,5 kg feines Eis hinzugesetzt und vorsichtig gerührt, bis — 2,5° erreicht wird. Die Lösung ist dann meistens etwa $6{,}55^0 P_{0D}$ NaCl geworden, was einem Gefrierpunkt von ungefähr — 3,86° entsprechen würde.

Rührt man stärker, oder sorgt man für eine bessere Wärmeisolation, so sinkt die Temperatur dieses Bades tiefer: — 3,14°, ja — 3,43° können erzielt werden. Je tiefer man die Temperatur hinunterrührt, um so schwieriger ist es, dieselbe konstant zu halten.

Man kann nun das Kryoskop in zweierlei Form anwenden: die einfache, wie sie von Franz Hugershoff in Leipzig und Marius in Utrecht in den Handel gebracht wird, hat nur ein Außengefäß. Mit einiger Übung kann man die Temperatur des Kühlbades durch passendes Rühren leicht auf — 2,5° konstant halten.

Das ist für die meisten Zwecke: Blut und Milch, nicht zu konzentrierte Harne, die geeignetste Temperatur des Bades. Man kann bequem einen Grad unterkühlen. Hat man Seewasser, Leibesflüssigkeiten von Meerestieren, konzentriertere Harne, so ist auf etwa — 3,1° zu rühren. Dann ist die Verwendung von noch 2 Außengefäßen und eventuell die Verwendung konzentrierterer Stammlösungen (9 bis 12°P_{0D}) praktisch.

Beschreibung des Apparats (Fig. 3 u. 4).

In einem äußeren Kühlgefäß aus starkem Glas ist ein Innengefäß aus gleichem Material und von etwas mehr als 5 Liter Inhalt derart eingesetzt, daß die Gefäße oben mit ihren geschliffenen Tragrändern aufeinander passen unter Bildung einer isolierenden Schicht trockener, aber unverdünnter Luft. Als Deckel dient eine dicke Ebonitplatte, in welche zwei Reagensglasrohre eingesetzt sind, von denen das weitere einen Luftmantel, das engere den Schnellkühler bildet, der zur Ableitung der Wärme aus dem in denselben eingetauchten Gefrierrohre mit etwas Quecksilber gefüllt ist. Der Luftmantel besteht aus zwei zusammengeschmolzenen Reagensgläsern. Die Luft zwischen denselben ist möglichst vollständig evakuiert: Dewar-Gefäß. Die Versilberung der Außenseite des inneren Rohres ist unterlassen, weil das Ganze durchsichtig sein soll, damit man beurteilen kann, ob das Gefrierrohr in richtiger Haltung (ohne den Dewar-Mantel zu berühren) sich befindet.

Die Rührvorrichtung besteht aus einem in das Innengefäß passenden Metallgitter aus vernickeltem Messing, das durch

einen Nickelstab mit Ebonitgriff auf und ab bewegt werden kann, wobei eine Stellschraube die Einstellung in beliebiger Höhe ermöglicht.

Zwei dünne, im Gitter bewegliche Metallzylinder umgeben den Schnellkühler und das Dewar-Gefäß. Dieselben gleiten in

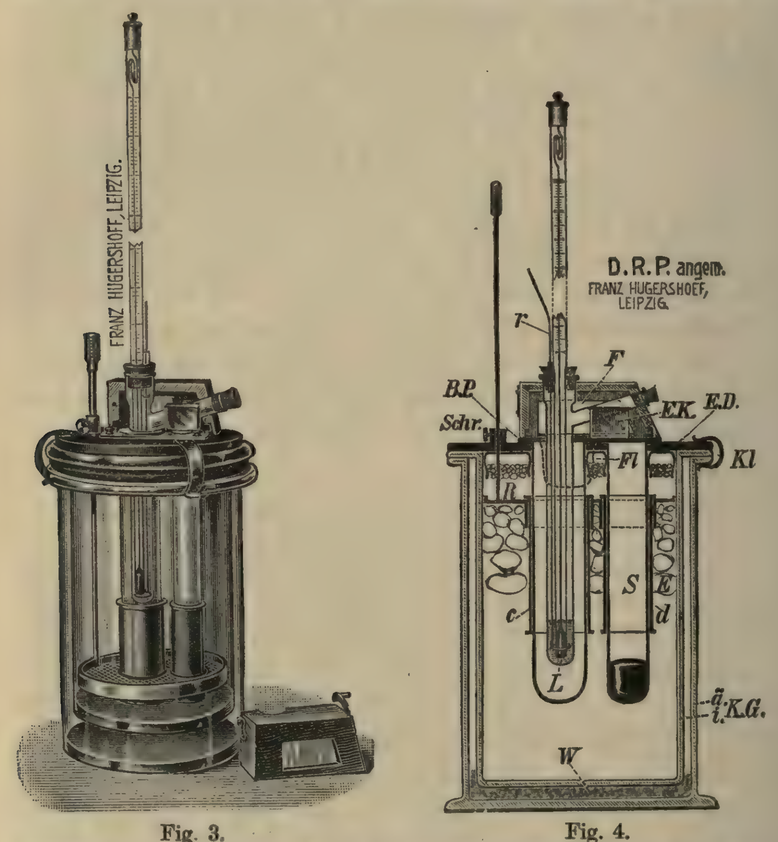


Fig. 3. Fig. 4.

Steigerung des Thermometers bei 1,18° unterkühlter 5° P₀D NaCl-Lösung (40 ccm, ohne Rühren, Gefrierröhre im Dewarschen Gefäß als Luftmantel, $k_a = 0{,}012^0$ p. Min. Versuch vom 22. II. 08.)

zwei etwas weitere, kürzere Metallzylinder, welche am Gitter befestigt sind. Diese Ausbildung des Rührers dient der Verteilung der in der Lösung schwimmenden Eisstückchen: die feinen schwimmen oben, die stärkeren durch das Gitter zurückgehaltenen sind durch die Metallzylinder am Hindurchtreten durch die Öffnungen für Schnellkühler und Dewar-Gefaß ver-

hindert, während das Gitter zu gleichem Zweck am Rand genügend genau in das Außengefäß paßt. Die Zylinder sind so lang, daß beim tiefsten Stand des Rührers die beiden Glasrohre noch am unteren Ende in den Zylindern stecken. Vernickelte Federn am Deckel halten die Rohre in richtiger Lage gegen diesen. Klammern halten den Deckel am Tragrand der Gläser, dabei aber eine Drehung um 180° gestattend.

Oben am Deckel ist eine Kupferplatte angeordnet, die mit Lappen oder Flügeln am Kupfer in das Kühlbad taucht und auf der zwei Eisbehälter mit federndem Deckel befestigt sind. Dieselben werden mit Kochsalz und zerstoßenem Eis gefüllt.

Das Gefrierrohr mit seitlichem Impfstutzen (wie beim Beckmann, aber länger (24 cm) und mit kugligem Boden) paßt genau in eine zweiteilige, durch Haken und Ösen mit ihren Hälften zusammengehaltene hölzerne Luftkammer mit einer geraden und einer schrägen Wand und seitlichen Fenstern. Diese Kammer ist innen mit Kupfer ausgekleidet. Die Öffnungen für den Schnellkühler, den Dewar-Mantel und das Gefrierrohr liegen so, daß, wenn man die Luftkammer mit dem Gefrierrohr hebt und um 180° dreht, man das Gefrierrohr entweder in den Schnellkühler oder in das Dewar-Gefäß hinabtauchen lassen kann.

Die Fenster der Luftkammer und die Eisbehälter sind so angeordnet, daß man die Impfstelle, d. h. die Stelle, wo der hochgezogene kleine Rührer mit einem kleinsten Eiskrystall infiziert wird, gut beobachten kann.

Der kleine Rührer besteht aus einem Fischbeinstab, an den unten in geeigneter Weise ein Ring aus starkem Platindraht befestigt ist. Das Fischbein muß nach ein paar Jahren erneuert werden: es zerfällt in die einzelnen Fäden. Glasrührer zerbrechen jeden Augenblick.

Für den praktischen Gebrauch des Kryoskopikers möchte ich eine kleine Modifikation am Thermometer vorschlagen. Er benutzt das Instrument immer nur im kleinen Meßbereich von, sagen wir + 0,2 bis etwa — 3,3. Man ersetze also das umgebogene Reservoir durch ein gerades. Der Nullpunkt ist also, bis auf kleine tägliche Veränderungen durch die Wirkung des Glases, konstant. Die Schale sei in $^1/_{100}{}^0$ eingeteilt. Der Gefrierpunkt des lufthaltigen destillierten Wassers befinde sich nahe der oben befindlichen Ziffer 4 (aber nicht — wie mir schon

vorgekommen ist, gerade oberhalb der Skala). Die untere Ziffer sei also 1: eine 0 gibt immer zu Irrtümern mit — und + Veranlassung.

Der Reif zum Impfen wird an der Außenfläche eines weithalsigen Glasgefäßes von etwa 100 ccm Inhalt, in dem feinzerstoßenes Eis, Kochsalz und gesättigte Kochsalzlösung vermischt werden. Der Rührer ist ein starkes kurzes Reagensrohr, in welchem der spitze gläserne Impfstab aufbewahrt wird.

Die Stammflüssigkeiten für das Kühlbad.

Ich benutze jetzt immer reines NaCl, weil in diesem Falle die Bestimmung des Gehaltes der Lösungen durch eine Messung des spez. Gew. bei 15° leicht und schnell ausführbar ist. Das Kochsalz des Handels kann mitunter hohe Prozentsätze an $CaCl_2$, Wasser, $MgCl_2$ usw. aufweisen. Man reinigt es am besten durch $Ba(OH)_2$ und $(NH_4)_2C_2O_4$. Ein Beispiel: 4,6 kg Handelskochsalz ergaben eine Lösung von 11,4 Liter spez. Gew. $^{15}/_{15}$ 1,197. Diese wurde filtriert und brauchten 1,3 Liter kalt gesättige Lösung von $Ba(OH)_2$. Das Präcipitat wurde abfiltriert. In das Filtrat erzeugte Barytwasser keinen Niederschlag mehr, es mußte aber 0,8 Liter 5 $^0/_0$ige Lösung von oxalsaurem Ammonium zugesetzt werden. Das Filtrat blieb auf neuen Zusatz von letzgenanntem Reagens klar, trübte sich mit $CaCl_2$ schwach. Diese Lösung wird auf freier Flamme eingedampft, zuerst entweicht NH_3, dann scheidet sich das genügend reine Chlornatrium ab. Dieses wird abgesaugt, zum Teil getrocknet, zum Teil in Wasser gelöst. Ich halte mir immer eine gesättigte Lösung und eine 8 $^0/_0$ige in Vorrat ($8^0 P_{\circ D}$). Es häufen sich die benutzten Kühlbäder bald an. Dieselben werden zu 8 $^0/_0$ NaCl regeneriert durch Zusatz geeigneter Mengen gesättigter Lösung. Eine Tabelle wird diese Arbeit sehr erleichtern.

Die Gerlachschen Bestimmungen des spez. Gew. reiner Kochsalzlösungen sind nicht ganz genau. Ich habe dieselben mit sorgfältig gereinigtem NaCl wiederholt und gebe die Zahlen in einer Tabelle. Die spez. Gew. beziehen sich auf destilliertes Wasser von 15°, wurden pyknometrisch bestimmt und beziehen sich auf absolute (aufs Vakuum reduzierte) Gewichte. Die Gewichtssätze sind nach einem von der physisch-techn. Reichsanstalt geeichten Quarzgewicht aufs sorgfältigste kontrolliert.

In der Tabelle wird eine Bezeichnungsweise für die drei im Gebrauch seienden Prozentsätze eingeführt, welche sich seit 8 Jahren in meinem Laboratorium bestens bewährt.

8 $^0P_{0D}$ NaCl heißt 8 g NaCl in 100 g H_2O gelöst: P (pondus) sagt aus, daß es sich um Gewichtsprozente handelt, D (dissolventis) bezeichnet, daß es sich um das Gewicht des Lösungsmittels handelt. Dies sind die von Raoult benutzten Prozentsätze. Die 108 g dieser Lösung enthalten 8 g NaCl, also $100 \text{ g} : \frac{800}{108} = 7{,}4075$ g. Diese Prozente bezeichnen wir als 9 $^0P_{0S}$ (pondus solutionis). Das sind die gebräuchlichsten Prozente. Die Beziehung zwischen die $^0P_{0D}$ und $^0P_{0S}$ ist für alle Lösungsmittel und sämtliche gelöste Stoffe die gleiche: wenn $p\ ^0P_{0D} = p'\ ^0P_{0S}$ ist, so ist $p' = \frac{100\,p}{100 + p}$.

Trägt man auf die Abszisse die $^0P_{0D}$-Prozente, auf die Ordinate die $^0P_{0D}$ und die $^0P_{0S}$-Prozente in gleichem Maßstabe auf, so bekommt man für die $^0P_{0D}$-Prozente eine Gerade, welche einen Winkel von 45 ^{0} mit beiden Ordinaten bildet, für die $^0P_{0S}$-Prozente ein Stück einer gleichseitigen Hyperbel.

Die Volumprozente $^0V_{0S}$ (volumen solutionis) können auch auf die Ordinate abgesetzt werden. Man bekommt für jede Substanz dann eine individuelle Kurve. Die Beziehung zwischen $p'\ ^0P_{0S}$ und $p''\ ^0V_{0S}$ ist einfach: $p'' = p'D$ wo D das spez. Gew. der Lösung bezeichnet.

100 ccm einer 8 $^0P_{0D} = 7{,}4075\ ^0P_{0S}$ NaCl-Lösung haben ein Gewicht von 105,42 g (1,0542 ist spez. Gew. $^{15^0}/_{15^0}$, man muß von dem geringen Unterschied zwischen den Dichten des Wassers bei 4 ^{0} und 15 ^{0} : 0,999126 absehen). Diese 105,42 g enthalten $1{,}0542 \times 7{,}4075$ g NaCl.

Das spez. Gew. einer NaCl-Lösung wird in der Praxis von einer hydrostatischen Wage mit Reimannschem Schwimmkörper von 5 g mit genügender Genauigkeit gemessen. Man muß aber zuerst die Laufgewichte eichen und genau auf die Temperatur achten.

Es sind drei Tabellen beigegeben: zwei vergleichende der spezifischen Gewichte und Prozentsätze mit $^0P_{0D}$, bzw. $^0P_{0S}$ als Eingangskolonne, und eine dritte, welche die Zahl der ccm gesättigte NaCl-Lösung angiebt, welche 3 Liter der meist vorkom-

menden gebrauchten Kühlbäder zu einer 8 $^0P_{^0D}$ NaCl-Lösung regenerieren.

Tabelle I.

Wässerige Kochsalzlösungen: die drei Prozentsätze: $^0P_{^0D}$ (p g NaCl + 100 g H_2O), $^0P_{^0S}$ (p′ g NaCl auf 100 g Lösung), $^{15}/_{15}{}^0V_{^0S}$ (p″ g NaCl auf 100 ccm bei 15°), die spezifischen Gewichte bei 15° in Vergleich zum Wasser von 15°.

p $^0P_{^0D}$ =	p′ $^0P_{^0S}$ =	p″ $^{15}/_{15}{}^0V_{^0S}$	Spez. Gew. $^{15}/_{15}$	Differenz der spez. Gew. für 1 $^0P_{^0D}$	Eigene Bestimmung des spez. Gew.
1,000	0,9901	0,9972	1,0072	—	—
2,000	1,9608	1,9886	1,0142	0,0070	1,01417
3,000	2,9126	2,9741	1,0211	0,0069	—
4,000	3,8462	3,9534	1,0279	0,0068	1,02788
5,000	4,7619	4,9267	1,0346	0,0067	—
6,000	5,6604	5,8937	1,0412	0,0066	1,0411
7,000	6,5421	6,8548	1,0478	0,0066	1,04782
8,000	7,4075	7,8090	1,0542	0,0064	1,05409
9,000	8,2569	8,7573	1,0606	0,0064	—
10,000	9,0909	9,6991	1,0669	0,0063	1,06692
11,000	9,9099	10,634	1,0731	0,0062	—
12,000	10,7143	11,562	1,0791	0,0060	—
13,000	11,5045	12,482	1,0850	0,0059	—
14,000	12,2807	13,397	1,0909	0,0059	—
15,000	13,0435	14,305	1,0967	0,0058	1,09672
16,000	13,7931	15,206	1,1024	0,0057	—
17,000	14,5299	16,099	1,1080	0,0056	—
18,000	15,2542	16,986	1,1135	0,0055	—
19,000	15,9664	17,866	1,1190	0,0055	—
20,000	16,6667	18,742	1,1245	0,0055	1,12452
21,000	17,3554	19,610	1,1299	0,0054	—
22,000	18,0328	20,473	1,1353	0,0054	—
23,000	18,6992	21,328	1,1406	0,0053	—
24,000	19,3548	22,179	1,1459	0,0053	—
25,000	20,0000	23,024	1,1512	0,0053	1,151205
26,000	20,6349	23,862	1,1564	0,0052	—
27,000	21,2598	24,693	1,1615	0,0051	—
28,000	21,8750	25,517	1,1665	0,0050	—
29,000	22,4806	26,334	1,1714	0,0049	—
30,000	23,0769	27,145	1,1763	0,0049	1,17634
31,000	23,6641	27,952	1,1812	0,0049	—
32,000	24,2424	28,751	1,1860	0,0048	—
33,000	24,8120	29,544	1,1907	0,0047	—
34,000	25,3731	30,334	1,1955	0,0048	—
35,000	25,9259	31,115	1,2001	0,0046	1,20014
35,861	26,3954	31,7875	1,2043	—	—

Interpoliert man hieraus die Zahlen für die einzelnen $^0P_{\circ S}$, so findet man, daß dieselben von den Gerlachschen höchstens 3 Einheiten der 4. Dezimalstelle verschieden sind (9 und 10 $^0P_{\circ S}$), 10 Gerlachsche Zahlen weichen 2 Einheiten der 4. Dezimale, 8 eine Einheit ab, 7 stimmen ganz überein:

Tabelle II.

1,000 $^0P_{\circ S}$ =	1,0101 $^0P_{\circ D}$ =	1,0073 $^0V_{\circ S}$ ·	Sp. G.$^{15}/_{15}$: 1,0073	Differenz
2,000	2,0408	2,0289	1,01445	0,00715
3,000	3,0928	3,0651	1,0217	0,00725
4,000	4,1667	4,1160	1,0290	0,0073
5,000	5,2632	5,1820	1,0364	0,0074
6,000	6,3830	6,2628	1,0438	0,0074
7,000	7,5269	7,3584	1,0512	0,0074
8,000	8,69565	8,4696	1,0587	0,0075
9,000	9,8901	9,5958	1,0662	0,0075
10,000	11,1111	10,7370	1,0737	0,0075
11,000	12,3595	11,8932	1,0812	0,0075
12,000	13,6363	13,0656	1,0888	0,0076
13,000	14,9425	14,2532	1,0964	0,0076
14,000	16,2791	15,4560	1,1040	0,0076
15,000	17,6471	16,6740	1,1116	0,0076
16,000	19,0476	17,9088	1,1193	0,0077
17,000	20,4819	19,1607	1,1271	0,0078
18,000	21,9511	20,4300	1,1350	0,0079
19,000	23,4568	21,7170	1,1430	0,0080
20,000	25,0000	23,0240	1,1512	0,0082
21,000	26,5823	24,3474	1,1594	0,0082
22,000	28,2051	25,6850	1,1675	0,0081
23,000	29,8701	27,0411	1,1757	0,0082
24,000	31,5789	28,4160	1,1840	0,0083
25,000	33,3333	29,8075	1,1923	0,0083
26,000	35,1351	31,2208	1,2008	0,0085
26,395	35,8610	31,7875	1,2043	—

Tabelle III.

Zahl der Kubikzentimeter gesättigte Kochsalzlösung, welche 3 Liter der nachstehenden NaCl-Lösungen zu einer 8 $^0P_{\circ D}$ NaCl regenerieren.

Sp. Gew. $^{15}/_{15}$ des gebrauchten Kühlbades	Differenz	Gehalt derselben in $^0P_{^0D}$	$^0P_{^0S}$	$^{15}/_{15}{}^0V_{^0S}$	Zur Regeneration der 8 $^0P_{^0D}$-Stammlösung erforderliche ccm gesättigte NaCl-Lösung pro 3 Liter	Differenz
1,0346	—	5,00	4,7619	4,9267	359,08 ccm	—
1,0363	0,0017	5,25	4,9881	5,1692	328,91 „	30,17
1,0380	0,0017	5,50	5,2133	5,4114	298,79 „	30,12
1,0397	0,0017	5,75	5,4374	5,6532	269,72 „	30,07
1,0413	0,0016	6,00	5,6603	5,8941	238,50 „	30,02
1,0430	0,0017	6,25	5,8824	6,1353	208,68 „	29,92
1,0446	0,0016	6,50	6,1033	6,3755	178,72 „	29,96
1,0462	0,0016	6,75	6,3232	6,6153	148,81 „	29,91
1,0478	0,0016	7,00	6,5421	6,8555	118,86 „	29,95
1,0494	0,0016	7,25	6,7599	7,0938	89,15 „	29,71
1,0510	0,0016	7,50	6,9767	7,3326	59,37 „	29,78
1,0526	0,0016	7,75	7,1926	7,5709	29,66 „	29,71
1,0542	0,0016	8,00	7,4075	7,8090	0,00 „	29,96

Berechnung dieser und ähnlicher Tabellen:

3 Liter 7,75 $^0P_{^0D}$ NaCl haben ein Gewicht von $3 \times 1,0526 =$ 3,1578 KG und enthalten $30 \times 7,5709 = 227,127$ g NaCl, mithin 2930,67 g H_2O. Die gesättigte NaCl-Lösung enthält pro 1 ccm = 1,2043 g : 0,317875 g NaCl und 0,886425 g H_2O. Davon müssen nun x ccm eine 8 $^0P_{^0D}$ ergeben. Also bekommt man die Gleichungen:

$$2930,67 + 0,886425\,x = 100\,y$$
$$227,127 + 0,317875\,x = 8\,y.$$

Eliminiert man y, so bekommt man 2930,67 — 2839,09 = 91,58 = 3,0870125 x.

Zur Berechnung von x hat man also jedesmal die Differenz der Gramme Wasser, welche in den 3 Litern der zu regenerierenden Lösung vorhanden sind, und 12,5 mal die darin enthaltene Quantität NaCl in Gramm, durch die Konstante 3,087 zu dividieren.

---

1 Liter gesätt. Kochsalzlösung + 3087 ccm H_2O = 4070,7 ccm 8 $^0P_{^0D}$ NaCl.

Die Bestimmung von k_a und K_E.

Die Dewarschen Gefäße sind von etwas verschiedener Güte, es scheint, daß in der Evakuation kleine Unterschiede vorkommen. Man bestimme k_a, und zwar mittels eines von der physikalisch technischen Reichsanstalt in Charlottenburg geeichten Beckmann-Thermometers. Man lese jede Minute den Stand des Thermometers ab, während das Gefrierbad im Dewar-

schen Gefäße als Luftmantel der Wirkung des Kühlbades ausgesetzt ist.

Beispiel. Benutzt wird das Beckmannsche Thermometer P. T. R. 30496. Gradwert der Teilung bei 0° bis 5°: 0,997. Kaliberkorrektionen bei den Skalenstellen 4. und 5.: 0,000°, bei 3. + 0,005°. Die Trägheitskonstante k_a dieses Thermometers ist von der Ordnung: 23,8° pro Grad pro Minute. Der Nullpunkt am Versuchstage war folgenderweise bestimmt: in einem Gefrierbade von 200 ccm destill. Wasser und feinem Eis, welches sich in einem Kühlbade von 5 Liter und gleicher Beschaffenheit befand, zeigte das Thermometer 4,801. Letzteres war in einem doppelwandigen Glaszylinder aufgestellt. Temperatur des Laboratoriums 16,7°. Das Thermometer wurde bei der Bestimmung des Nullpunktes geklopft, das Kühlbad kräftig gerührt; das Eis war nicht sehr fein, aber in großer Menge vorhanden. Wir wollen t_w auf 4,800 annehmen, was aber noch 0,001 zu hoch gegriffen sein dürfte.

Es werden nun 40 ccm nicht ausgekochtes destilliertes Wasser ins Gefrierrohr gebracht, dieses zuerst in den Schnellkühler gestellt, bis das Thermometer 5,000 zeigte. Das Kühlbad war anfangs — 5,5° gewesen, jetzt erwärmt es sich allmählich: war am Ende der Messungen auf — 5,1 gestiegen (etwa nach 3½ Stunde). Dasselbe war von drei Luftmänteln umgeben, der Deckel war nicht in Watte eingepackt. Das Gefrierbad wird 2 mal pro Minute gerührt, bei 20″ und bei 40″.

Zeit	Skalenstelle	Differenz	Kühlbad	$k_a = \frac{1}{z_2 - z_1} \log nat \frac{t_1 - t_c}{t_2 - t_c}$
4,39′	4,890		— 5,35°	$-t_c \quad t_w \quad t_1$ bzw.; t_2
4,40′	4,835	0,055°	— 5,35° 4 Schläge mit dem großen Rührer	$k_a = \frac{1}{1} \log \frac{5{,}35 - 4{,}80 + 4{,}89}{5{,}35 - 4.80 + 4{,}835}$ $= 0{,}01015^0$ pro Grad und pro Minute
4,41′	4,783	0,052°	— 5,35° 4 Schläge mit dem großen Rührer	$= 0{,}01027$
4,42′	4,720	0,063°		wegen der Temperaturveränderung des Kühlbades ist die Formel nicht anwendbar.
4,43′	4,665	0,055°	— 5,4°	
4,44′	4,610	0,055°		$k_a = 0{,}01059$
4,45′	4,550	0,060°		0,01158
4,46′	4,495	0,055°		0,01075
4,47′	4,440	0,055°		0,01085
4,48′	4,385	0,055°		0,01096
4,49′	4,330	0.055°	— 5,4°	0,01110

Im Mittel finden wir $k_a = 0{,}01^0$ pro Grad und pro Minute, d. h. bei einer konstanten Kühlbadtemperatur t_c von $-2{,}50^0$ sinkt das Thermometer in 40 ccm, auf $-1{,}5^0$ unterkühltes destilliertes Wasser im betreffenden Apparat und unter den obwaltenden Umständen (Dimensionen des Gefrierrohres, Temperatur im Luftkästchen, zwei Schläge mit dem kleinen Rührer usw.) $0{,}01^0$ jede Minute, so der Temperaturunterschied zwischen Kühlbad und Gefrierbad 1^0 beträgt.

Andere Male wurde für das nämliche Dewargefäß $0{,}008^0$ gefunden, bei anderer Quantität ap. dest. im Gefrierbade.

Die Messung von K_E ist bedeutend schwieriger. Man muß solche Versuche wählen, bei denen die Steigung des Thermometers, durch weniger gelungene Impfung, langsam genug erfolgte, um den Zeitpunkt, an den jeder $0{,}01^0$ Strich der Skala passiert wurde, registrieren zu können. Oder aber muß man sich auf die Registration der Zeiten beschränken, an denen die $0{,}05^0$-Striche passiert wurden.

Ich habe eine Zahl solcher Messungen angeführt, bei denen der Gang des Thermometers nach Donders indirekt registriert wurde: auf berußtem Papier wird die Zeit in $^1/_{10}$ Sekunden aufgezeichnet, und jedesmal, daß ein Strich der Skala passiert wird, drücke ich auf einen Stromschlüssel. Zu gleicher Zeit nenne ich die Zahl, welche von einem Gehilfen aufgeschrieben wird, damit man später weiß, was die Signale bedeuten. Ist K_E etwa $= 1^0$ pro Minute und pro Grad, so gelingt es, jeden Zeitpunkt, wo ein $0{,}01^0$-Strich passiert wird, mit genügender Genauigkeit zu registrieren. Man muß aber stets den Mittelwert von je drei aufeinanderfolgenden Zeiten nehmen: nicht so sehr, weil die indirekte Registrierung, wegen des Zeitverlusts des psychophysischen Prozesses und wegen der psychologischen Erscheinungen bei zu schnellem Verlauf, eine unvollkommene Methode ist, als vielmehr weil der Gang des Thermometers, wenn nicht gerührt wird, immer erfolgt etwas stoßweise.

Fig. 5 zeigt den Gang des Thermometers und die daraus abgeleitete K_E-Kurve. Letztere diene ausschließlich zur Illustration des Verlaufs solcher Kurven, macht aber auf Genauigkeit keinen Anspruch, weil hier u. a. die Änderung des Gefrierpunktes während des Gefrierens der 5 proz. NaCl-Lösung nicht

in Rechnung gezogen ist. Man müßte dazu die spez. Wärme derselben bei der betreffenden Temperatur, den Wasserwert des Thermometers und des Gefrierrohrs kennen. Als die K_E-Kurve konstruiert wurde, fehlten mir diese Daten.

Konstant beobachtet man gleich nach der Impfung eine Art „latente Periode" von ziemlich verschiedener Dauer, während welcher die Temperatur fast nicht steigt. Die Trägheit des Thermometers spielt hier eine (kleine) Rolle. Dann fängt das Thermometer mit zuerst anwachsender Geschwindigkeit zu steigen an, und auch K_E nimmt sehr rasch zu, aber

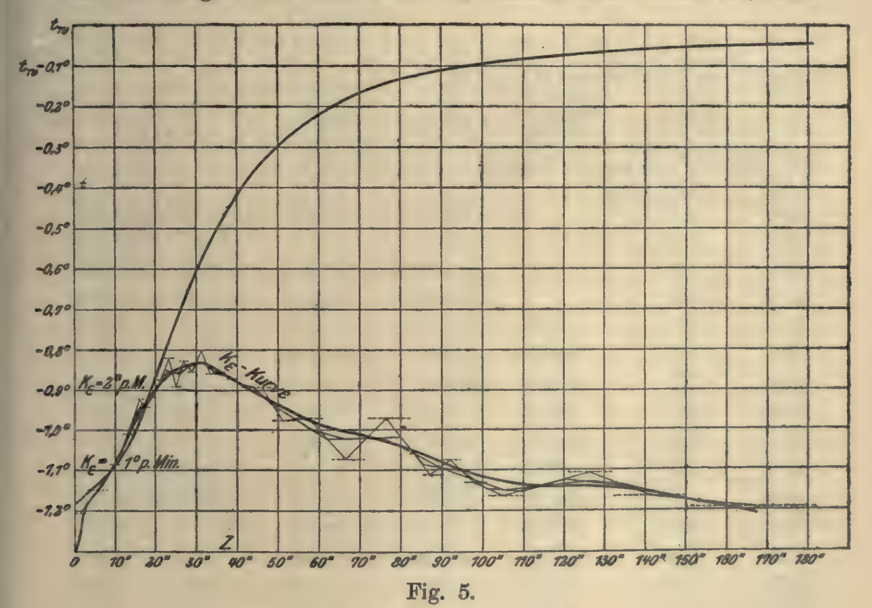


Fig. 5.

bald verlangsamt sich der Gang merklich. Die K_E-Kurve nähert sich dann schon längst der Abszisse.

Dieses Sinken von K_E dürfte zum guten Teil dem Mangel an Bewegung in der gefrierenden Flüssigkeit sein. Im Anfang des Gefrierens entstehen durch die Eisbildung keineswegs unbedeutende Strömungen, wie die Schlieren zeigen. Am Ende des Gefrierens aber macht sich die Schwierigkeit, ohne Zufuhr von Wärme zu rühren, peinlich bemerkbar. Ich konnte bis jetzt keinen praktischen Rührer für die vorliegenden Verhältnisse konstruieren. Man kann doch nicht zwei Rührer einsetzen: einen zum Impfen und einen zum rotierenden Rühren!

Ich stelle das Kryoskop und das Chronoskop, welches 10 Schwingungen pro Sekunde ausführt, auf den nämlichen Tisch, dessen Platte nicht in die Mauer eingelassen ist, sondern einfach auf vier Füßen steht und mitschwingt. Hierdurch und durch das Beklopfen des Thermometers wird ein Rühren ohne Wärmezufuhr einigermaßen ersetzt.

Es folgen hier die Zahlen, welche mit 40 ccm destilliertem Wasser, kurz nach der oben erwähnten k_a-Bestimmung, für K_E registriert wurden. Zur Berechnung dient die Formel (9).

Skalenstelle	Zeit in Sekunden, in der das Intervall durchl. wurde	Korrigierter Zeitwert: 1/3 der Summe je drei aufeinanderfolgender Zahlen	$\frac{dt}{dz}$ in Grad pro Minute	$k_a(t-t_c)$ $t_c=-5{,}15^0$ $k_a=0{,}01$ Nach Ablauf der Registration wurde $t_c=5{,}10$ gefunden	$K_E(t_w-t) = \frac{dt}{dz} + k_a(t-t_c)$ $t_w=4{,}800$	K_E
3,57	geimpft	latente Periode				
3,58	4,9″					
3,59	0,6″		1,	0,039	1,039	0,855
3,60	0,65		0,924	0,039	0,963	0,800
3,65	3,10		0,966	0,040	1,006	0,856
3,70	0,9		(3,333)	0,040	(3,373)	3,000
3,75	1,35	1,117	2,690	0,041	2,731	2,540
3,80	1,1	1,150	2,610	0,041	2,651	2,585
3,85	1,0	0,967	3,101	0,042	3,143	3,225
3,90	0,8	0,883	3.380	0,042	3,422	3,702
3,95	0,85	0,850	3,530	0,043	3,573	4,080
4,00	0,9	0,388	3,380	0,043	3,423	4,150
4,05	0,9	0,900	3,333	0,044	3,377	4,350
4,10	0,9	0,933	3,219	0,044	3,263	4,505
4,15	1,0	0,983	3,052	0,045	3,097	4,588
4,20	1,5	1,150	2,605	0,045	2,650	4,245
4,25	1,4	1,250	2,400	0,046	2,446	4,251
4,30	1,3	1,367	2,200	0,046	2,246	4,280
4,35	1,4	1,467	2.046	0,047	2,093	4,405
4,40	1,7	1,717	1,750	0,047	1,797	4,230
4,45	2,05	2,033	1,479	0,448	1,527	4,070
4,50	2,35	2,367	1,269	0,048	1,317	4,051
4,55	2,7	2,867	1,048	0,049	1,097	3,995
4,60	3,55	3,667	0,818	0,049	0,867	3,855
4,65	4.75	4,75	0,632	0,050	0,682	3,900
4,66	1,45	1,10	0,545	0,050	0,595	4,103
4,67	0,9	1,467	0,410	0,050	0,460	3,410
4,68	2,05	1,667	0,372	0,050	0,422	3,380
4,69	1,9	1.900	0,316	0,050	0,366	3,180
4,70	1,75	1,967	0,305	0,050	0,355	3,380

Skalenstelle	Zeit in Sekunden, in der das Intervall durchl. wurde	Korrigierter Zeitwert: 1/3 der Summe je drei aufeinanderfolgender Zahlen	$\frac{dt}{dz}$ in Grad pro Minute	$k_a(t-t_c)$ $t_c = -5{,}15^0$ $k_a = 0{,}01$ Nach Ablauf der Registration wurde $t_c = 5{,}10$ gefunden	$K_E(t_w - t)$ $= \frac{dt}{dz}$ $+ k_a(t-t_c)$ $t_w = 4{,}800$	K_E
4,71	2,25	2,367	0,253	0,050	0,303	3,190
4,72	3,1	3,017	0,199	0,050	0,249	2,930
4,73	3,7	3,700	0,162	0,0505	0,213	2,841
4,74	4,3	4,667	0,1285	0,0505	0,179	2,755
4,75	6,0	6,467	0,093	0,051	0,144	2,620
4,76	9,1	9,1	0,066	0,051	0,117	2,604
2 Schläge mit dem kleinen Rührer.						
4,77	2,3					
4,78	3,7					
4,707 nach mehreren Minuten.						

Als am Schluß des Versuches zweimal gerührt wurde, fing das Thermometer fast viermal schneller zu steigen an. Auf den letzten Intervallen lastet also eine Verzögerung, weil nicht gerührt wurde.

Die Formel (1) gibt hier:

$$t_w = t_s + \frac{k_a}{K_E}(t_s - t_c)$$

$$= \quad =$$

$$4{,}801 - \delta = 4{,}787 + \frac{0.01}{K_E}(4{,}787 - (-0{,}3)).$$

Auf dem benutzten Thermometer würde $-5{,}1^0$ nämlich an der Skalentabelle $-0{,}3$ liegen; δ ist der kleine Wert, um die der scheinbare Nullpunkt der direkten Bestimmung 4,801 von den wahren verschieden ist.

$$0{,}014 - \delta = \frac{0{,}05087}{K_E}$$

für $\delta = 0{,}001^0$ wird $K_E = 3.91$

„ $\delta = 0{,}002^0$ „ $K_E = 424$

„ $\delta = \mathbf{0{,}003^0}$ „ $K_E = \mathbf{4{,}62}$:

der wahrscheinlichste Wert,

„ $\delta = 0{,}004^0$ wird $K_E = 5{,}087$.

Es wird dann $t_w = 4{,}798$.

Es dürfte dies eine Bestätigung der Nernstschen Formel sein und eine Methode zur Bestimmung des Nullpunktes mittels des Kryoskops und des Registrierapparats ergeben. Man müßte den Maximalwert für K_E und annehmen, daß das Sinken von K_E ein scheinbares ist, wegen der mangelhaften Bewegung der

gefrierenden Flüssigkeit. Es ist auch nicht abzusehen, warum die Gesamtoberfläche des Eises so sehr abnehmen soll. Die Schmelzwärme des Eises ist bei — 0,65°, wo K_E ein Minimum aufweist, auch nicht viel kleiner: $80 - \frac{0.65}{2}$ nach Pettersson, statt 80. Es ist noch zu brmerken, daß die Geschwindigkeit der Temperaturänderung, nachdem K_E den Maximalwert erreicht hat, nicht länger gleichmäßig genug ist, als das erlaubt wäre, $\frac{dt}{dz}$ in der gefolgten Weise abzuleiten.

Ein zweites Beispiel der Bestimmung von K_E mit 50 ccm destilliertes Wasser, $k_a = 0,008$, sonst aber ganz wie beim soeben beschriebenen Versuch, ergab sehr viel geringen Wert für K_E. Die Impfung war nicht gut gelungen, ich hatte nämlich etwas nassen Hagelschnee in den Impfstutzen geschoben, der an der Oberfläche des nur 0,607° unterkühlten Wassers schwimmen blieb.

Die Registration gelang gut, wie aus den geringen Unterschieden zwischen den beobachteten und registrierten Zeiten ersichtlich. Wir fanden als Maximalwert von K_E 1,7. Es ist kein Grund vorhanden, an der Richtigkeit dieses Ergebnisses zu zweifeln. In einem anderen, ähnlichen Fall gelang die Impfung noch weniger gut, und dauerte die latente Periode 10,9″, der Maximalwert von K_E war nur 0,73.

Skalenstelle	Zeit in Sekunden, in der das Intervall durchlaufen wurde	Korrigierte Zeit: $\frac{z_1 + z_2 + z_3}{3} = z$	$\frac{dt}{dz}$ in Grad pro Minute aus der korrig. Zeitbest.	$k_a(t - t_c)$ wenn der Nullpunkt an der Skalenstelle 4,00 angenommen wird. $t_c = -2,65^0$ $k_a = 0,008$	$K_E(t_n - t)$ beim nämlichen Nullpunkt	K_E
3,39						
3,40	6					
3,41	0,9					
3.42	1,55	1,30	0,462	0,0165	0,4785	0,819
3,43	1,45	1,43	0,420	0,0166	0,4366	0,761
3,44	1,3	1,32	0,455	0,0167	0,4717	0,835
3,45	1,2	1,23	0,486	0,0168	0,5028	0,906
3,46	1,2	1,17	0,515	0,0168	0,5310	0,976
3,47	1,1	1,17	0,515	0,0169	0,5319	0,995
3,48	1,2	1,15	0,522	0,0170	0,5398	1,027
3,49	1,15	1,08	0,555	0,0171	0,5721	1,110
3,50	0,9	1,00	0,600	0,0172	0,6172	1,221
3,51	0,95	1,02	0,588	0,0172	0,6052	1,222
3,52	1,2	1,02	0,588	0,0173	0,6053	1,250
3,53	0,9	1,10	0,545	0,0174	0,5624	1,182

Skalenstelle	Zeit in Sekunden, in der das Intervall durchlaufen wurde	Korrigierte Zeit: $\frac{z_1 + z_2 + z_3}{3} = z$	$\frac{dt}{dz}$ in Grad pro Minute aus der korrig. Zeitbest.	$k_a(t-t_c)$ wenn der Nullpunkt an der Skalenstelle 4,00 angenommen wird. $t_c = -2{,}65^0$ $k_a = 0{,}008$	$K_E(t_w-t)$ beim nämlichen Nullpunkt	K_E
3,54	1,2	1,03	0,500	0,0175	0,5975	1,284
3,55	1,0	1,07	0,563	0,0176	0,5806	1,278
3,56	1,0	1,00	0,600	0,0176	0,6176	1,388
3,57	1,0	1,02	0,588	0,0177	0,6057	1,394
3,58	1,05	1,03	0,580	0,0178	0,5978	1,404
3,59	1,05	1,03	0,580	0,0179	0,5879	1,416
3,60	1,9	1,00	0,600	0,0180	0,6180	1,525
3,61	0,95	0,92	0,654	0,0180	0,6720	1,700
3,62	0,8	0,95	0,632	0,0181	0,6501	1,690
3,63	1,1	1,12	0,537	0,0182	0,5552	1,481
3,64	1,45	1,33	0,450	0,0183	0,4683	1,281
3,65	1,45	1,32	0,456	0,0184	0,4744	1,333
3,66	1,05	1,27	0,475	0,0184	0,4934	1,428
3,67	1,3	1,27	0.475	0,0185	0,4935	1,470
3,68	1,45	1,33	0,450	0,0186	0,4686	1,440
3,69	1,25	1,37	0,440	0,0187	0,4587	1,453
3,70	1,40	1,35	0,445	0,0188	0,4638	1,520
3,71	1,40	1,45	0,414	0,0188	0,4328	1,468
3,72	1,55	1,55	0,388	0,0189	0,4069	1,429
3,73	1,7	1,68	0,357	0,0190	0,3760	1,366
3,74	1,8	1,63	0,367	0,0191	0,3871	1,460
3,75	1,4	1,70	0,353	0,0292	0,3722	1,460
3,76	1,9	1,90	0,316	0,0192	0,3352	1,367
3,77	2,4	2,20	0,273	0,0193	0,2923	1,245
3,78	2,3	2,30	0,261	0,0194	0,2804	1,246
3,79	2,2	2,38	0,252	0,0195	0,2715	1,261
3,80	2,65	2,58	0,232	0,0196	0,2516	1,227
3,81	2,9	2,83	0,212	0,0196	0,2316	1,187
3,82	2,95	3,13	0,192	0,0197	0,2117	1,143
3,83	3,55	3,62	0,166	0,0198	0,1858	1,061
3,84	4,35	3,95	0,152	0,0199	0,1719	1,040
3,85	3,95	4,48	0,134	0,0200	0,1540	0,994
3,86	5,15	4,75	0,126	0,0200	0,1460	1,008
3,87	5,15	5,88	0,102	0,0201	0,1221	0,906
3,88	7,35	6,83	0,088	0,0202	0,1082	0,866
3,89	8	8,70	0,069	0,0203	0,0893	0,777
3,90	10,75	10,07	0,0596	0,0204	0,0800	0,762
3,91	11,45	12,17	0,0494	0,0204	0,0698	0,736
3,92	14,3	14,73	0,0407	0,0205	0,0612	0,720
3,93	18,45	19,02	0,0315	0,0206	0,0521	0,695
3,94	24,03	24,3	0,0246	0,0207	0,0453	0,697

Ein Schlag mit dem Rührer.

3,95 4,55

Ein Schlag mit dem Rührer.

3,96 5,85

3,97 13,4

3,985 nach mehreren Minuten $= t_s$

Für $K_E = 1{,}7$ kommt man auf $t_w = 3.997$,

„ $K_E = 1{,}6$ „ „ „ $= 3{,}998$,

$= 1{,}5$ „ „ „ $= 3{,}999$.

Nachdem das Gefrierbad längere Zeit auf 3,905 gestanden hatte, wurde versucht, es durch Rühren auf 4,000 zu bringen. Je ein Schlag des kleinen Rührers pumpt 1,8 ccm Luft von Zimmertemperatur ins Gefrierrohr, weil beim Heben des Rührers der lange und nicht ganz dünne Fischbeinstiel aus dem Wasser gehoben wird, und das Niveau 8 mm sinkt (14,5 bis 13,7 cm, Durchmesser des Gefrierrohrs 24 mm). Nach 140 Schlägen war das Thermometer aber erst auf 3,990. Offenbar hatte sich so viel Eis gebildet, daß die Erwärmung durch Schmelzen größtenteils kompensiert wurde. Und, nachdem die Luft im Gefrierrohr auf Zimmertemperatur gekommen ist, führt jeder Schlag des Rührers weniger Wärme zu.

Drei Stunden vor der registrierten Beobachtung, bei $-3{,}1^0$ im Kühlbade, gefror die nämliche Portion aq. dest. spontan bei 2,6, stieg schnell bis 3,981, wurde dann durch 15 Schläge mit dem kleinen Rührer bis 4,000 erhitzt; nach 2′ war das Thermometer auf 3,990 gesunken. In diesen 2′ wäre die Temperatur, falls kein Eis sich im Gefrierbade befände, $0{,}048^0$ gesunken,

$$\left(\text{denn } 0{,}008 = \frac{1}{2} \log \frac{3100}{3052}\right).$$

Nach 5′ 30″ stand das Thermometer 3,989; ein Schlag mit dem Rührer brachte es nach 2′ 30″ auf 3,988, wo es 13′ blieb, dann veranlaßten drei Schläge von dem Rührer ein Sinken bis 3,987, wo es 1 Stunde lang unverändert blieb.

Es wurde nun das Eis durch Ermärmen mit der Hand geschmolzen, dann wurde bis 3,5 unterkühlt, geimpft; sehr langsam stieg das Thermometer bis 3,980, dann wurde das Gefrierbad durch 24 Schläge mit dem Rührer schnell auf 4,000 gebracht; in 100″ ging es auf 3,990 zurück, nach 280″ auf 3,988.

Die Bestimmung des scheinbaren Nullpunkts.

Wieviel darf man rühren, um den richtigen scheinbaren Nullpunkt zu finden?

Versuch vom 13. März 1808. Ich wollte einen Schneefall benutzen zur Beantwortung der Frage, ob man beim Impfen mit Schnee genau den nämlichen Gefrierpunkt bekomme, wie beim Impfen mit künstlichem Eis, und außerdem eine möglichst genaue Bestimmung des wahren Nullpunkts machen.

Die Möglichkeit, daß mehrere dicht beieinander gelegene Schmelzpunkte vorliegen, ist beim Wasser nicht ganz ausgeschlossen, weil dasselbe in mehreren festen Formen auftritt.[1])

9,3′ 30″ Kühlbad: —3,43°, k_a des Dewar-Gefäßes 0,0125° pro Grad und pro Minute. Zimmertemperatur 12°.

9,5′ 30″ 50 ccm aq. dest. von 11,25° ins Gefrierbad in den Schnellkühler gestellt. Thermometer: P. T. R. 30496.

9,16′. Das Thermometer ist auf 5,000 (=0,98° C, wie wir sehen werden). Ein paar Schläge mit dem kleinen Rührer.

9,10′. Das Thermometer ist auf 4,25 gekommen und

9,20′ auf 3,605 und

9,22′ auf 3,1. Kühlbad: —3,37°. Das Gefrierbad wird in den Schnellkühler gestellt und bei 2,95 mit einem großen Stück, etwa 200 mg, „Hagelschnee“ geimpft.

Das Thermometer steigt viel zu schnell für Registration: ich würde K_E auf mindestens 14° pro Grad pro Minute abschätzen. Bei 4,000 werden zwei Schläge mit dem kleinen Rührer gemacht. Das Thermometer steigt auf 4,020.

Der Stiel des Rührers hatte viel Reibung mit den (zwei) Korkstopfen.

Wieder 3 Schläge mit dem kleinen Rührer, das Thermometer steigt auf 4,028, noch 2 Schläge: 4,030, noch 2: 4,032, noch 2: 4,033.

Es ist jetzt 9,27′. Um 9,28′ fängt das Quecksilber zu sinken an: 1 Schlag: 4,031, 4,0305. Das Gefrierrohr wurde jetzt aus dem Dewar genommen: die ganze Oberfläche des Glases ist mit äußerst zahlreichen feinsten Eisnadeln bedeckt, auch das Thermometer, dies jedoch weniger als das Gefrierrohr selbst.

[1]) Bakhuis Roozeboom, Die heterogenen Gleichgewichte. 1901, 27.

Das Eis wird bei etwa 2^0 geschmolzen, 9,33 wird das Gefrierrohr wieder in den Schnellkühler gesetzt. 3 Schläge mit dem großen Rührer: Kühlbad $-3{,}38^0$.

9,41′ nach Überbringung in den Dewar bei 2,95 mit einem Stückchen grobes Eis mit glatter Oberfläche, etwa 100 mg Kunsteis, geimpft.

Das Thermometer steigt schnell bis 4,0, 2 Schläge gerührt: 4,020, 3 Schläge: 4,025, 3 Schläge: 4,027, 3 Schläge: 4,029, sinkt auf 4,028, 3 Schläge: 4,029. Es ist jetzt 9,44′30″. Wieder 3 Schläge: 4,030; sinkt 9,47′ auf 4,0295; 3 Schläge, sinkt auf 4,029, 2 Schläge: 4,029: 9,48′20″. Steigt ohne Rühren: 9,50′ auf 4,030, fängt 9,51′ zu sinken an: 4,0295. 9,54′ 1 Schlag: 4,030. Dann 60 Schläge in 1′: nicht höher als 4,033 zu bringen: bleibt bis 10,14 (nur ein Schlag um 10,10′) auf diesem Punkt stehen. Um 10,14′ wird das Gefrierrohr in 4 l frischen, schmelzenden Schnee gestellt, welcher in einem anderen Exemplar des Kryoskops aufbewahrt wurde. Stand um 11,5′:4,021, um 11,23′:4,021.

„Hagelschnee“ und Kunsteis ergaben (auch in anderen Versuchen) den nämlichen scheinbaren Gefrierpunkt, wenn gegen Ende des Steigens zwei Schläge mit dem kleinen Rührer gemacht wurden.

Es ist sehr schade, daß eine Bestimmung von K_E nicht geschehen ist. Für unmöglich darf ich eine Registration bei so schnellem Steigen nicht erklären; bei anderen Bestimmungen sind Werte von $K_E = 12$ als Maximalwert herausgekommen. Man muß dann das Passieren der $0{,}1^0$-Striche registrieren; dieses Intervall wird in etwa 1″ durchlaufen. Eine photographische Registrierung ist mir noch nicht gelungen.

Der scheinbare Nullpunkt dürfte bei 4,018 gelegen haben.

$$t_w = 4{,}020 = 4{,}018 + \frac{0{,}0125}{14}(3{,}37).$$

Man muß sehr vorsichtig sein mit dem Rühren, so viel ergibt sich doch wohl sicher aus den mitgeteilten Zahlen. Die zwei Schläge am Ende des Steigens dürften den scheinbaren Nullpunkt doch schon $0{,}003^0$ zu hoch gebracht haben.

Jetzt wird das Thermometer einen Moment unter dem Strahl der Wasserleitung gehalten und dann in das, in den Dewar gebrachte, Gefrierbad zurückgestellt. Es wird nicht ge-

rührt: die Trägheit des Thermometers ist darum nicht aus diesen Zahlen zu berechnen.

11,25′20″:	5,000		11,28′30″:	4,062
26′20″:	4,590	Die Zahlen sind unsicher wegen Verwischung des Protokolls.	40″:	4,059
50″:	4,380		29′10″:	4,050
27′10″:	4,260		30′ :	4,040
20″:	4,220		34′ :	4,034
40″:	4,1		11,36′ :	4,031
28′10″:	4,075			

12 Uhr 2 Schläge mit dem kleinen Rührer: 4,030. Kühlbad — 3.
1,12′ 2 „ „ „ „ „ : 4,030.

Das Gefrierbad wird jetzt in den Schnee gebracht: Nach $4^1/_2$ Stunden wird das Thermometer wieder abgelesen: 4,020, abends um 8,32′: 4,018.

Abends um 8,32′ Temperatur des (ohne Watte-Einpackung usw. aufbewahrten) Kühlbades — 2,13°.

Ich möchte hier gleich das weitere Betragen dieses Thermometers am Abend desselben Tages und am nächsten Morgen mitteilen.

9 Uhr abends 13. März 1908 wird eine neue Portion von 50 ccm aq. dest. bei 3,02 mit Schnee geimpft: das Thermometer steigt langsam, ohne daß gerührt wird (außer dem einen Schlag beim Impfen) bis 4,030 (9,2′), 4,034 (9,3′), 4,037 (9,4′15″), 4,036 (9,7″), 4,037 (9,12′). Kühlbad — 2,13. Zimmertemperatur 10,83°. Der Nullpunkt hat sich verändert. 9,14′: 1 Schlag mit dem Rührer, das Thermometer wird geklopft: 9,15′: 4,039.

Ich stelle das Thermometer in den nassen Schnee: 4,040 (9,27′), sinkt aber bis 4,037, wenn dasselbe gehoben wird, so daß sein Gewicht die „Kugel“ nicht länger drückt.

14. März. Das Thermometer zeigt in dem Hagelschnee 4,039. 50 ccm aq. dest. bis 2,8 unterkühlt, gefrieren spontan, nur im Anfang des Steigens wurden ein paar Schläge mit dem Rührer gemacht; steigt bis 4,036, ist nach 1 Stunde 4,036: Klopfen bringt keine Veränderung, ebensowenig 2 Schläge mit dem Rührer.

Das Eis wird geschmolzen. Das nämliche Wasser wird

bei 3,39 mit dem Schnee geimpft ohne Rühren, nach sehr langer Zeit, $^3/_4$ Stunde ungefähr, wird 4,037 erreicht.

Ich bestimme den Nullpunkt jetzt zweimal: die erste Messung ist eine orientierende. Bei der zweiten wird etwas mehr als 1° unterkühlt (im Schnellkühler, beim Gefrierrohr mit kugligem Boden, damit nicht so leicht spontanes Gefrieren eintrete, was bei flachem Boden in dem Capillarraum zwischen Platinring des Rührers und Glas sonst leicht geschieht). Dann wird das Gefrierbad in den Dewar gebracht, und etwas gerührt, bis das Thermometer ganz langsam sinkt: etwa 0,012° oder 0,016° pro Minute bei Kühlbadtemperatur von — 2,5 bzw. — 3. Die Temperatur wird notiert, der Rührer hochgehoben, der Ring mit einem Glasstab, der an Reif gerieben war, berührt und der Rührer gleich kräftig bis auf den Boden des Gefrierbades geführt. Die Temperatur an der Impfstelle ist bei meinem Apparat 2° oder etwas darunter, die Impfung gelingt fast immer beim ersten Versuch. Etwa 2 Minuten nach dem Impfen werden zwei Schläge mit dem Rührer gemacht: dann wird in wenigen Sekunden der Nullpunkt erreicht. Das Thermometer wird geklopft!

Jedenfalls muß bei den Gefrierpunktsbestimmungen der Lösungen und Körperflüssigkeiten in derselben Weise gerührt werden als beim Bestimmen des Nullpunkts. Dann wird in beiden Fällen der scheinbare Gleichgewichtspunkt in gleichem Maße heraufgerührt!

Praktische Regeln für die Kryoskopie.

Die Tatsache, daß man bei jeder kryoskopischen Messung immer nur den scheinbaren Gleichgewichtspunkt erhält, und daß an einer jemaligen Messung von K_E in der Praxis nicht zu denken ist, nötigt uns zu einigen Kautelen:

1. Damit K_E möglichst groß sei, unterkühle man so viel, als aus anderen Gründen (Korrektion wegen Zunahme der Konzentration durch die Eisbildung, Anwachsen von $t_s - t_c$) zulässig ist. Eine Unterkühlung von etwas mehr als 1° scheint mir die praktischste Lösung.

2. Damit K_E möglichst gleich sei bei den einzelnen Versuchen, verwende man nur solche, bei denen die Impfung gut gelungen, das Thermometer etwa in 2′ seinen Stand t_s erreicht

hat. K_E hat dann ungefähr den Wert 4° pro Grad pro Minute. (Vgl. Fig. 2.)

3. Man sorge, daß die Mischung von Eis und Kochsalzkrystallen im Eiskästchen häufig erneuert wird, damit die Temperatur an der Impfstelle möglichst niedrig sei.

4. Beim Impfen muß der kleine Rührer rasch auf den Boden des Gefrierbades gebracht werden, damit die Eiskeime möglichst in die unterkühlte Flüssigkeit zerstreut werden.

5. Man mache nicht mehr als zwei Schläge mit dem kleinen Rührer, am Ende des Steigens, etwa nach 1 bis $1^1/_2$ Minute, damit man den scheinbaren Gleichgewichtspunkt nicht erhöhe.

6. Man arbeite mit nicht zu kleinen Quantitäten Flüssigkeit, weil der Wasserwert von Thermometer und Gefrierrohr keineswegs zu vernachlässigen ist. Derselbe beträgt rund 10 g Calorien. Hat man also 20 ccm 1 $^0/_0$ NaCl, deren spezifische Wärme wir auf 0,986 schätzen, auf — 1,6° unterkühlt, so muß so viel Eis gebildet werden, daß nicht nur die 20 ccm selbst, sondern auch Thermometer und Gefrierrohr um etwas mehr als 1° erwärmt werden. Nimmt man für die latente Schmelzwärme des Eises in erster Annäherung 80, so wird sich durch die Eisbildung behufs Erwärmung der Flüssigkeit die Konzentration um $\frac{0,986}{80}$ erhöhen, die Gefrierpunktsdepression des Lösungsmittels also um $\frac{0,986}{80}$ zu groß gefunden werden. Wegen des Thermometers und des Gefrierrohrs ist dieses Korrektionsglied $1^1/_2$ mal größer. Bei 40 ccm Flüssigkeit ist er nur $1^1/_4$ mal so groß. Der Wasserwert des Thermometers und des Gefrierrohrs ist nicht so ganz genau zu bestimmen und ist auch nicht immer gleich. Die Temperatur im Luftkästchen ist nicht genau zu regulieren, so daß die oberen Teile des Gefrierrohrs bei den einzelnen Versuchen etwas ungleich warm sind.

Die Korrektionen.

Wenn ${}^{w}t_w$ und ${}^{w}t_s$ den wahren, bzw. den scheinbaren Gefrierpunkt des lufthaltigen destillierten Wassers bezeichnen, ${}^{L}t_w$ und ${}^{L}t_s$ die nämlichen Punkte für die untersuchte Lösung, abgesehen von der Erhöhung der Konzentration durch die Eisbildung, so erhält man durch Subtraktion der Gleichungen

$$^{w}t_m = {}^{w}t_s + \frac{k_a}{K_E}({}^{w}t_s - t_c)$$

$$\text{und} \quad {}^{L}t_w = {}^{L}t_s + \frac{k_a}{K_E}({}^{L}t_s - t_c)$$

$$\Delta = {}^{w}t_w - {}^{L}t_w = {}^{w}t_s - {}^{L}t_s + \frac{k_a}{K_E}({}^{w}t_s - {}^{L}t_s),$$

wenn K_E in beiden Versuchen gleich ist.

Für die meist vorkommenden Flüssigkeiten ist Δ unweit 0,6°, also wird das Korrektionsglied $\frac{0{,}008}{4} \times 0{,}6 = 0{,}0012^0$. Diese Korrektion fällt also unter den gegebenen Versuchsbedingungen aus; man ist doch nicht von $^1/_{1000}$ Grad sicher, wegen des Rührens.

Man kann bei den meisten Gefrierpunktsbestimmungen (unweit 0,6°), wenn man nur Wasser und Lösung ganz gleich behandelt, die scheinbaren Gefrierpunkte anstatt der wahren nehmen. Das Thermometer muß aber gleich schnell gestiegen sein, die Temperatur des Kühlbades muß konstant sein, und es muß gleich unterkühlt sein.

Eine zweite Korrektion, welche bei diesen Gefrierpunktsbestimmungen nicht angebracht zu werden braucht, ist die für die Eisbildung wegen der abkühlenden Wirkung des Kühlbades während des Gefrierens. Hier schützt das Dewargefäß.

Bei $K_E = 4$ und Unterkühlung auf etwas mehr als $-1{,}6^0$ ist die mittlere Temperatur während der ersten 15″ nach dem Passieren von $-1{,}6^0$: $-1{,}284^0$ (die $-t' = e^{-K_{E^2}}$-Kurve schneidet die Horizontale $\left[t_w - \frac{1}{e}\right]$ nach $\frac{1}{K_E}$ Minuten, also hier nach 15″), während der nächsten 15″: $-0{,}854^0$, dann 15″ lang: $-0{,}695^0$, für den Rest $-0{,}625^0$. Die Abkühlung würde, wenn keine Eisbildung stattfände und bei $k_a = 0{,}008^0$ und $t_c = -2{,}5^0$ $0{,}028^0$ betragen in den 2′, welche der Versuch dauert. Die Eisbildung ist also auf $(1 + \delta + 0{,}028^0)$ zu berechnen, statt auf die Unterkühlung $(1 + \delta)^0$.

Man kann nicht impfen, ohne den Kork des Impfstutzens zu lösen und etwas warme Luft ins Gefrierrohr eintreten zu lassen.

Man meine nicht, daß der Stand des Thermometers gleich vor dem Impfen die wahre Impftemperatur angibt. Wenn der

erste Impfversuch mißlingt, stellt sich immer heraus, daß die Temperatur des Gefrierbades etwas gestiegen ist, und diese Steigung ist von der Ordnung $0{,}028^{0}$.

Die Beckmannsche Korrektur für die Erhöhung der Konzentration durch die Eisbildung muß aber stets angebracht werden. Unterkühlt man Wasser 1^{0}, so bildet sich $\frac{1}{80}$ seines Gewichts an Eis während des Gefrierens. Unterkühlt man eine wässerige Lösung von einer spezifischen Wärme $= 0{,}986$ bis $-1{,}6^{0}$, und steigt das Thermometer beim Gefrieren auf $-0{,}6^{0}$, so ist die Quantität Eis nicht genau $\frac{0{,}986}{80}$ des Gewichts des in der Flüssigkeit enthaltenen Wassers, sondern man muß bedenken, daß die Schmelzwärme des Eises bei $-t^{0} = 80 - \frac{t}{1}$ Calorien ist (Pettersson, zitiert nach Chwolson, Lehrb. d. Physik, **3**, 617, 1905).

Bei einer Unterkühlung auf $-1{,}6^{0}$ bildet sich das Eis zwischen $-1{,}6$ und $-1{,}5$ im Mittel bei $-1{,}55^{0}$, also Schmelzwärme 79,225, so daß $\frac{1}{79{,}255}$ des Wassers ausfriert. Zwischen $-1{,}6$ und $-0{,}6^{0}$ friert $\frac{1}{79{,}45}$ aus. Wäre der Wasserwert von Thermometer und Gefrierrohr zu vernachlässigen, so müßte man jede ermittelte Gefrierpunktserniedrigung um $\frac{1}{79{,}45}$ vermindern. Der Wasserwert eines Beckmann-Thermometers ist 3,22 g-Calorien: Volum der Kugel: 3 ccm, Volum des Schutzrohrs darf auf 4 ccm angeschlagen werden: also $7 \times 0.46 = 3{,}22$ g-Calorien. Mein Gefrierrohr ist ziemlich dickwandig: bei 50 ccm Füllung ist das Volum der Glaswand 14 ccm. So kommt man auf einen Gesamtwasserwert von 9,66 g-C. bei 50 ccm Füllung. Bei 40 ccm kommt man auf 8 g-C., also auf $^{1}/_{5}$ des Wasserwerts der Füllung.

Bei 40 ccm Gefrierbad friert also zwischen $-1{,}6$ und $-0{,}6^{0}$ $\frac{1{,}2}{79{,}45}$ aus, bei 50 ccm $\frac{1{,}193}{79{,}45}$. In beiden Fällen ist die Korrektion $0{,}009^{0}$ anzubringen bei $\Delta = 0{,}600$, denn man hat im ersteren Fall das Ergebnis durch 66,21 zu dividieren, im zweiten Fall durch 66,60.

Der wahre Gefrierpunkt: $\Delta\left(1-\frac{1}{66{,}2}\right)$ bzw. $\Delta\left(1-\frac{1}{66{,}6}\right)$ (wo $\Delta = {}^{w}t_{s} - {}^{L}t_{s}$) ist also um 0,002° unsicher zu bestimmen: wegen des Rührens. Für die Praxis dürfte dies genügen.

Das Kühlbad arbeitet mehrere Stunden. Bei Serienbestimmungen kann man sich viel Zeit ersparen, wenn man die Flüssigkeiten im Eisschrank vorkühlt. Am Anfang und am Schluß muß man immer den Nullpunkt bestimmen. Eine Messung nimmt etwa 7′ in Anspruch.

Resumierend: Findet man in der beschriebenen Weise den Gefrierpunkt von 40 bis 50 ccm Milch oder Blutserum bei — 0,560°, so ist dies ein scheinbarer Gefrierpunkt, weil die Flüssigkeit durch die Eisbildung bei 1° Unterkühlung konzentrierter geworden ist; der wahre Gefrierpunkt war $\frac{1}{66{,}9}$ höher: — 0,552°, und die Möglichkeit liegt vor, daß dieser durch die zwei Schläge mit dem kleinen Rührer am Ende des Steigens noch um 0,002° zu hoch getrieben wurde, so daß faktisch — 0,554° die genaue Zahl wäre.

Es ist mir eine angenehme Pflicht, Herrn Prof. Wind in Utrecht meinen besten Dank für seinen Rat bei der Behandlung des theoretischen Teiles der Aufgabe auszusprechen.

Eine Methode graphischer Registrierung einiger Gärungsvorgänge.

Von

Carlo Foà
Privatdozent und Assistent.

(Kgl. Physiologisches Institut zu Turin unter Leitung von Prof. A. Mosso.)

Mit 9 Figuren im Text.

Um die Geschwindigkeit und den Verlauf der katalytischen und fermentativen Reaktionen zu erforschen, pflegt man im allgemeinen, nach Entnahme der Proben in mehr oder weniger langen Zeitintervallen eines oder mehrere Produkte der Reaktion quantitativ zu bestimmen; auf diese Weise kann man die Konstante der Geschwindigkeit ermitteln, den Einfluß der Konzentration des Substrats, des Enzyms, der Produkte der Reaktion selbst usw. Vermittels dieser Methode hat man z. B. die Wasserstoffsuperoxydkatalyse durch kolloidale Metalle oder organische Katalasen studiert, die Invertierung der Saccharose durch Säuren oder Invertin, die Emulsin-Amygdalin- und die Maltosewirkung usw. Den Verlauf einiger speziellen Reaktionen konnte man vermittels physikalisch-chemischer Methoden untersuchen, welche eine Entnahme von Proben nicht erfordern und den ungestörten Fortgang der Reaktion gestatten. So z. B. wurde die Wirkung des Trypsins auf Gelatine von V. Henri, Larguiers des Barcels und Bayliss durch die Leitfähigkeitsmethode und die Pepsinverdauung der Eiweißstoffe vermittels der viscosimetrischen Methode untersucht. Im allgemeinen jedoch erweist es sich als nicht möglich, einen Fermentprozeß in seinem vollständigen Verlauf, d. h. ununterbrochen, zu verfolgen; es werden vielmehr nur einige seiner Momente analysiert, was in der Mehrzahl der Fälle die Gesamtanalyse der Erscheinung nicht beeinträchtigt.

Es gibt aber einige katalytische Vorgänge oder Gärungsprozesse, bei denen es sich als in hohem Grade schwierig herausstellt, die Komponenten der Reaktion selbst quantitativ zu bestimmen oder die sich bildenden Mischungen, sei es nun, daß es an passenden analytischen Methoden fehlt, oder daß es nicht gelingt, dem Gemisch Proben zu entnehmen, ohne den Verlauf der Reaktion zu ändern. So z. B. ist es sehr schwer, die Wirkung einer Oxydase auf das Hydrochinon oder auf das Tyrosin zu verfolgen, weil weder diese Körper noch die durch ihre Oxydation entstehenden quantitativ genau bestimmt werden können. Allerdings hat man verschiedene Methoden angewendet, um die Einwirkung der Oxydasen quantitativ zu bestimmen, aber keine von ihnen ist unbedingt genau. So hat Slowtzoff[1]) die Oxydation des Röhmannschen Reagens unter Einwirkung der Lakkase vermittels einer colorimetrischen Methode studiert; letztere kann aber, wenn sie vielleicht auch in bezug auf das von diesem Autor unsersuchte Reagens von Wert ist, in vielen anderen Fällen unbrauchbar sein. Wir wissen ja nicht, ob die Farbenveränderung dem Grade der Oxydation proportional verläuft; dagegen wissen wir, daß viele Substanzen, z. B. das Guajakharz, eine Färbung annehmen, die allmählich bis zu einem gewissen Grade der Oxydation immer intensiver wird, um bei weiterer Oxydation sich wieder zu entfärben.

Aus diesem Grunde sind die Untersuchungen von Laborde[2]) nicht genau, der die Oxydation des Guajakharzes vermittels der colorimetrischen Methode verfolgt hat. Medweden[3]) studierte die Einwirkung der Aldehydase auf den Salicylaldehyd, wobei es die Mengen der gebildeten Salicylsäure colorimetrisch bestimmte; diese Methode läßt sich aber nur bei dieser speziellen Oxydase anwenden.

---

[1]) Slowtzoff, Zur Kenntnis der pflanzlichen Oxydasen. Zeitschr. f. physiol. Chem. **31**, 227, 1900—1901.

[2]) Laborde, Oxydase de Botritis cinerea. C. R. Acc. Scien. **126**, 1898, 536.

[3]) Medweden, Über die Oxydationskraft der Gewebe. Pflügers Archiv **65**, 249, 1897. — Ders., Über die oxydativen Leistungen der tierischen Gewebe. — Ders., Pflügers Archiv **74**, 193. — Ders., Pflügers Archiv **81**, 540. — Ders., Pflügers Archiv **183**, 1405.

O. v. Fürth und E. Jerusalem[1]) untersuchten die Wirkung der Tyrosinase der Pilze auf das Tyrosin nach zwei Methoden. Durch die Sedimentierungsmethode bestimmten sie das Volum des dunkelen Niederschlages von oxydiertem Tyrosin, indem sie die Mischung in graduierten Röhren zentrifugierten; durch die spektrophotometrische Methode bestimmten sie den Extinktionskoeffizienten des Gemisches bei verschiedenen Graden der Oxydation.

Die Autoren weisen darauf hin, daß die Fällung der oxydierten Substanz nicht immer vollständig ist, daß man sie aber leicht erhält, wenn man das Gemisch mit Calciumchlorid kocht. Nun scheint mir aber, wenn der Niederschlag sich bei einem gewissen Grad der Oxydation bildet, während die Flüssigkeit bei einer geringeren Oxydation nur eine braune Färbung annimmt, ohne daß sich ein Niederschlag bildet, es sei die Annahme gestattet, das das Kochen mit Calciumchlorid, wenn es die Fällung vervollständigt, auch den Zustand der in der Umbildung begriffenen Substanz verändert und die Oxydation weiter vorgeschritten erscheinen läßt, als sie es in Wirklichkeit ist. Hinsichtlich der spektrophotometrischen Methode sagen v. Fürth u. Jerusalem selbst, sie könne nur relative Werte ergeben, da keine Melaninlösung von bekannter Konzentration vorhanden sei, die zum Vergleich dienen könne. Meines Erachtens aber ist außer diesem Übelstande noch folgendes in Erwägung zu ziehen: Wenn die Oxydation einen solchen Grad erreicht hat, daß ein Teil der oxydierten Substanz sich in Lösung befindet, während sich auch ein Niederschlag gebildet hat, so wird es nicht anders möglich sein, als den präzipitierten Teil bei der Bestimmung des Extinktionskoeffizienten zu vernachlässigen.

Genauer ist die von Bach und Chodat[2]) angewandte Methode. Sie titrierten das bei der Oxydation des Jodkaliums frei gewordene Jod; diese Methode ist aber nur bei den Oxydasen anwendbar, die auf Jodkalium einwirken.

---

[1]) O. v. Fürth u. E. Jerusalem, Zur Kenntnis der melanotischen Pigmente und der fermentativen Malaninbildung. Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 1907, 131.

[2]) Bach und Chodat, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 35, 1902; 36, 1903; 37, 1904; 38, 1905; 39, 1906; 40, 1907.

Bach und Chodat suchten auch das Gewicht des Purpurogallins zu bestimmen, das bei der Oxydation des Pyrogallols entsteht; aber diese Methode kann ebensowenig wie die von v. Fürth und Jerusalem beim Tyrosin verwendete eine streng genaue sein, und zwar aus den schon früher in bezug auf die letzte angeführten Gründe. Kastle und Shedd[1]) bestimmten quantitativ das aus der Oxydation des Phenolphthalins stammende Phenolphthalein, aber v. Czylarz und v. Fürth[2]) bemerken, daß, obgleich das Phenolphthalein spektrophotometrisch wohl quantitativ bestimmt werden könne, so sei diese Methode nicht genau, weil die farblose alkalische Lösung des Phenolphthalins sich leicht an der Luft auch ohne Anwesenheit irgend eines Ferments oxydiere. v. Czylarz und v. Fürth (loc. cit.) wählten zur quantitativen Erforschung der Wirkung der Peroxydasen die Leukobase des Malachitgrüns, das sich bei der Oxydation in Malachitgrün verwandelt und sich im Spektrophotometer leicht quantitativ bestimmen läßt. Unter allen vorgeschlagenen Methoden ist diese vielleicht die genaueste; wir dürfen aber nicht vergessen, daß die Oxydasen und Peroxydasen zu den nicht streng spezifischen Fermenten gehören, die ihre Wirkung bei einer großen Zahl von Körpern, sei es derselben, sei es verschiedener chemischer Gruppen entfalten. Deshalb genügt es nicht, an einem dieser Körper die Reaktion zu studieren, um dann die Resultate ohne weiteres auf alle anderen zu übertragen, und es war wünschenswert, eine beim Studium jeder beliebigen Oxydasewirkung anwendbare Methode zu finden. Eine derartige Methode könnte nur auf derjenigen Grundlage aufgebaut werden, die allen diesen Reaktionen gemeinsam ist, nämlich auf der Fixierung eines Teiles des atmosphärischen Sauerstoffs. Mir schien es indessen nicht unnütz, nachzuforschen, ob es nicht möglich wäre, diese Absorption von Sauerstoff quantitativ und fortlaufend zu bestimmen, indem ich den Grad der Druckverminderung feststellte, der in einem geschlossenen Gefäß eintritt, in welchem die Oxydation erfolgt, und diese Verminderung des Druckes

---

[1]) Kastle und Shedd, Phenolphtalin as a reagent for the oxydising ferments. Amer. Chem. Journal 26, 26, 1901.

[2]) v. Czylarz und v. Fürth, Über tierische Peroxydasen. Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol, 10, 359, 1907.

während der ganzen Reaktion graphisch registrierte. Die Untersuchung chemischer Reaktionen vermittels graphischer Methoden ist nichts Neues; viele mit periodischem Charakter eintretende Reaktionen sind nach der Methode der graphischen Registrierung studiert worden, wobei je nach Beschaffenheit der Fälle verschiedene Hilfsmittel angewendet worden sind.

So fand Ostwald[1]), daß die bei Auflösung des Chroms in Säuren stattfindende Entwicklung von Wasserstoff in Perioden auftritt, und es gelang ihm mit Hilfe einer Mareyschen Formel, die Schwankungen des Druckes zu verzeichnen, die in dem geschlossenen Gefäß eintreten, in welchem das Gas sich periodisch entwickelt. Vermittels einer der Ostwaldschen sehr ähnlichen Methode registrierten Bredig und seine Mitarbeiter[2]) graphisch den Verlauf der Spaltung des Wasserstoffsuperoxyds über metallischem Quecksilber. Die Sauerstoffentwicklung vollzieht sich periodisch, weshalb Bredig dieser Erscheinung den Namen „pulsierende Katalyse" beilegte und mittels einer Huertleschen Formel die Druckschwankungen registrierte, die in dem geschlossenen Gefäß eintreten, in welchem der Sauerstoff sich mit pulsierendem Charakter entwickelte; er erhielt Kurven, die sehr an die Sphygmogramme der Physiologen erinnerten.

Küster[3]) erhielt Kurven von Schwankungen der Intensität des Stromes während der Elektrolyse der Polysulfiden, Thile und Windeschmidt[4]) Kurven der bei der Elektrolyse von Nickelsalzen eintretenden Schwankungen.

H. Schulz[5]) untersuchte vermittels der graphischen Methode die alkoholische Gärung. Das bei der Reaktion sich ent-

---

[1]) W. Ostwald, Periodische Erscheinungen bei der Auflösung des Chroms in Säuren. Zeitschr. f. physikal. Chem. 35, 33 u. 204. — Vgl. auch E. Braner. Zeitschr. f. physikal. Chem. 38, 441.

[2]) Bredig und Weinmayr, Eine periodische Kontaktkatalyse. Werk d. Naturhist. Med. Vereins zu Heidelberg. Jahrg. 7 u. 8. — Ernst Wilke, Periodische Erscheinungen bei der Quecksilberkatalyse des Wasserstoffsuperoxyds. Inaug.-Diss. Heidelberg 1904.

[3]) Küster, Zeitschr. f. Elektrochem. 8, 496.

[4]) Thile und Windeschmidt, Periodische Erscheinungen bei der Elektrolyse von Nickelsalzen. Zeitschr. f. Elektrochem. 13, 317, 1907.

[5]) H. Schulz, Ein Apparat zur graphischen Darstellnog von Gärungsvorgängen. Pflügers Archiv 120, 51.

wickelnde Kohlensäureanhydrid häuft sich in dem geschlossenen Gefäß an, bis es einen durch ein besonderes Ventil bestimmten Druck erreicht hat, und dann erfolgt zugleich die Registrierung und das Entweichen des Gases; eine neue Registrierung findet nur dann statt, wenn das Kohlensäureanhydrid wieder jenen bestimmten Druck erreicht hat. Auf diese Weise war es dem Autor möglich, den Verlauf der Reaktion nicht fortwährend, sondern periodisch zu registrieren.

Untersuchungsmethode. In allen bis jetzt vermittels der graphischen Methode untersuchten Fällen fand die Reaktion unter Entwicklung eines Gases statt, das einen bestimmten Druck erzeugen und registrierende Apparate in Bewegung setzen konnte. Die von uns noch zu beschreibende Methode eignet sich auch für das Studium solcher Reaktionen, außerdem aber für die Untersuchung der Einwirkung der Oxydasen, wo statt Gasentwicklung Absorption von Gas und mithin Abnahme des Druckes in dem geschlossenen Gefäß erfolgt, in welchem die Oxydation stattfindet.

Die Methode besteht in folgendem:

Das Gefäß hat an seinem oberen Teile vier Öffnungen *a*, *b*, *c*, *d*, die durch durchlöcherten Gummistopfen verschlossen werden. Durch die Öffnung *a* geht eine Glasröhre mit einem Hahn, die dazu bestimmt ist, den Sauerstoff in den Apparat zu leiten. Durch die Öffnung *b* geht eine Glasröhre, die an ihrem oberen Ende durch einen Glashahn geschlossen ist; über diesem ist die Röhre trichterförmig erweitert. Durch die Öffnung *c* geht eine weite Glasröhre, die bis auf den Boden des Gefäßes reicht. Durch diese geht ein Glasstab, der unten frei in die Flüssigkeit ragt und oben an einem Glasstopfen, der die Glasröhre schließt, befestigt ist. Am unteren Ende des Stabes sind einige quergerichtete Glasvorsprünge angebracht, die dazu dienen sollen, die Flüssigkeit im Gefäß *1* in Bewegung zu versetzen, wenn der obere Glasstopfen gedreht wird. Durch die Öffnung *d* geht eine Glasröhre, die das Gefäß *1* mit dem Gefäß *2* in Verbindung setzt; letzteres hat oben drei Öffnungen *e*, *f* und *g*. Durch eine Glasröhre, die durch die Öffnung *f* geht, kann der Sauerstoff austreten; durch die Öffnung *g* geht eine Glasröhre, die bis zum Boden des Gefäßes *2* reicht. Letzteres ist zur Hälfte mit Wasser gefüllt, auf dem eine Schicht von

Vaselinöl schwimmt, um die Gasabsorption seitens des Wassers und die Verdunstung des letzteren zu verhindern. Die beiden miteinander verbundenen Gefäße werden in einen Thermostaten gebracht, dessen Wasser bei der Temperatur, bei der die Reaktion eintreten soll, erhalten wird; sie werden bis zu dem durch die Linie *l* bezeichneten Niveau hineingebracht. Die beiden Hähne *m* und *n* werden offen gelassen, damit die Luft bei der

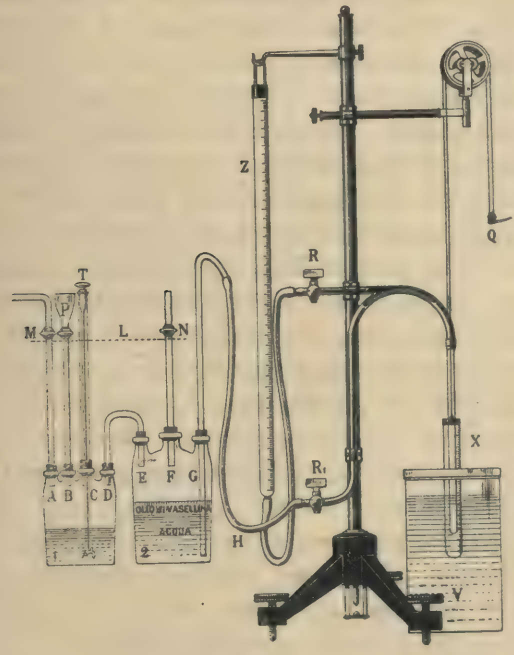


Fig. 1.

Erwärmung austreten kann. Hierauf gießt man in den Trichter *p* die zu oxydierende Lösung und diejenige des Fermentes, wobei der Hahn *m* offen bleibt. Dann hebt man den Stopfen *t*, dreht ihn nach rechts und nach links, so daß die hineingegossene Flüssigkeit tüchtig durchgerührt wird, und verschließt den Stopfen wieder. Die Hähne und der Stopfen sind sorgfältig abgeschliffen und mit Fett luftdicht beschmiert. Will man, daß die Reaktion in einer Atmosphäre von reinem Sauerstoff eintritt, so läßt man das Gas durch die Röhre *a* einströmen und durch die Röhre *f* entweichen. Wenn das ganze System mit

Sauerstoff gefüllt ist, was nach Hindurchgehen von 25 Litern der Fall ist, so müssen die Hähne *m* und *n* geschlossen werden.

Es bleibt nur noch übrig, die Gefäße mit dem Registrierapparat in Verbindung zu setzen. Wir wollen die im Innern des Apparates eintretende Abnahme des Volums registrieren, müssen dies aber so durchführen, daß die Abnahme des Druckes gleichzeitig kompensiert wird, damit nicht eine fortschreitende Druckverminderung des Sauerstoffs den Verlauf der Oxydation ändert. Zur Erreichung dieses doppelten Zieles eignet sich vortrefflich der Mossosche Plethysmograph, der, während er die Änderungen des Volums registriert, den Druck im Innern des Systems konstant erhält, indem er den Ein- oder Austritt von Wasser aus dem Gefäß *2* verursacht. Hinsichtlich der Beschreibung des Plethysmographen verweisen wir den Leser auf die wohlbekannten Arbeiten von Mosso; wir wollen nun sehen, wie er in unserem Falle funktioniert. Wenn man eine Absorption von Sauerstoff und folglich eine Volumverminderung im System verursacht, so wird Wasser aus dem Plethysmographen in das Gefäß *2* eintreten, und während die Feder sich senkt, wird der atmosphärische Druck im System wiederhergestellt werden. Der Pletysmograph registriert und korrigiert also zu gleicher Zeit jede minimale Änderung des Druckes, die in den beiden Gefäßen eintritt. Um das Wasser des Gefäßes *2* mit dem des Plethysmographen in ununterbrochenen Zusammenhang zu bringen, genügt es, den Sauerstoff unter Druck aus der Röhre *a* eintreten zu lassen, während man den Hahn *m* geöffnet und den Hahn *n* geschlossen hält.

Das Wasser des Gefäßes *2* wird alsdann in der Röhre *g* aufsteigen; wenn diese voll ist, hört man auf, Sauerstoff überzuleiten, und schließt den Hahn *m*. Auch füllt man mit Wasser das Gummirohr *h* des Plethysmographen, wobei der Hahn *z* geschlossen, der Hahn *r* offen bleibt und die mit Wasser gefüllte Bürette *z* in die Höhe hebt. Dann öffnet man den Hahn *z*, worauf die beiden Gefäße mit dem Plethysmographen in Verbindung stehen. Das Reagensglas *x* des letzteren und mithin auch die Feder *q* werden eine bestimmte Lage annehmen, und zwar dieselbe Lage wie zu Anfang. Während des Experimentes wird sich die Feder senken und es wird Absorption vom Sauerstoff stattfinden; die Feder wird

steigen, wenn Ausströmung von Gas im Gefäß *1* erfolgt. Wenn dagegen statt des Sauerstoffs die Anwesenheit von Luft genügte, so wären die Operationen selbstverständlich sehr vereinfacht; man muß aber damit rechnen, daß in diesem Falle, wenn der Gesamtdruck im System durch den Plethysmographen unverändert bleibt, der Partialdruck des Sauerstoffs dagegen, da es sich um eine Oxydation handelt, abnehmen wird.

Es ist auch absolut notwendig, die Flüssigkeit im Gefäß *2* und den Alkohol im Gefäß *V* auf demselben Niveau zu halten, da eine Ungleichheit im Niveau das Gas in den Gefäßen *1* und *2* komprimieren oder dessen Druck vermindern würde. Damit keine bedeutenden Schwankungen im Niveau der Flüssigkeit im Gefäß *2* stattfinden, wenn das Wasser des Plethysmographen aus- oder eintritt, wird es einen ziemlich weiten Durchschnitt haben müssen. Für die Erklärung der Kurve, d. h. um für jeden einzelnen Punkt der Kurve die Menge des absorbierten Sauerstoffs bestimmen zu können, ist es nötig, den Apparat zu eichen, d. h. das Volum des in das Reagensglas eingeströmten Wassers, welches eine gewisse Erhöhung der Feder bewirkt, zu bestimmen. Ich habe ein für allemal bei meinem Apparat bestimmt, daß der Ein- oder Austritt von 10 ccm Wasser aus dem Reagensglas ein Sinken resp. eine Erhebung der Feder von 56 mm verursacht.

Da nun die Oxydation ziemlich langsam verläuft, so muß natürlich die Registriertrommel sehr langsam rotieren. Die von mir verwendete Trommel hatte 64 cm im Umkreis und machte in 24 Stunden eine vollständige Umdrehung. Eine Strecke von 2,25 cm entspricht also einer Stunde.

Da Veränderungen des Volums einer gashaltigen Atmosphäre zu registrieren sind; so ist es von der größten Wichtigkeit, daß keine Veränderungen der Temperatur und des atmosphärischen Druckes eintreten. Unser Apparat kann in der Tat als Thermograph oder Luftdruckmesser fungieren. Deshalb muß er in Tätigkeit treten, wenn der barometrische Druck konstant ist; auch muß die Temperatur des Thermostaten auf konstanter Höhe erhalten werden. Um dieses zweite Ziel zu erreichen, umwickelte ich nicht nur den Thermostaten mit sehr dichtem Filz und unterhielt eine konstante und regelmäßige Durchrührung des Wassers mittelst eines Schaufelrades, das

durch einen kleinen elektrischen Motor bewegt wurde, sondern ich mußte auch einen außerordentlich empfindlichen Wärmeregulator verwenden.

Vermittels der gewöhnlichen Ostwaldschen Wärmeregulatoren mit Toluoldämpfen erreicht man im allgemeinen, daß

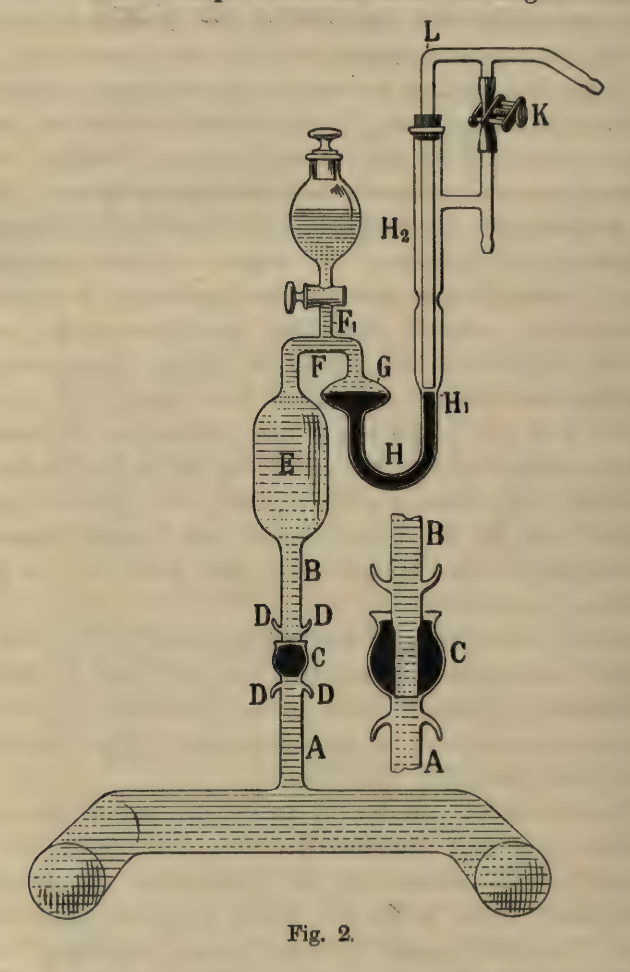


Fig. 2.

die Temperatur nur Schwankungen von Dezigraden erfährt, aber diese Schwankungen hätte mein Apparat noch zu deutlich wahrgenommen, und sie hätten sich durch ziemlich weite Schwankungen der Kurve kundgegeben. Deshalb mußte ich eine größere Beständigkeit dadurch erreichen, daß ich einigen Übelständen abhalf, die der Ostwaldsche Wärmeregulator zeigt.

Deshalb ließ ich einen Regulator konstruieren nach dem von Kenzo Suto ersonnenen Typus. Dieser Autor hatte beobachtet, daß die Dampfregulatoren zu empfindlich gegen Änderungen des atmosphärischen Druckes sind. Ich wollte einen Flüssigkeitsregulator verwenden und wählte das Petroleum als die Flüssigkeit, welche gleichzeitig einen großen Ausdehnungskoeffizienten und eine geringe spezifische Wärme hat. Der Wärmeregulator, den ich konstruieren ließ (Fig. 2), besteht aus einer sehr breiten, umfassenden, wagerechten Grundlage horizontaler Basis, die durch eine hufeisenförmige Röhre gebildet wird, deren drei Seiten eine Länge von 20 cm und einen inneren Durchmesser von 4 cm haben. Aus dem mittleren Schenkel steigt senkrecht eine Röhre *a* empor, die mit der Röhre *b* luftdicht verbunden ist. Um die Verbindung der beiden Röhren zu sichern und um zu verhüten, daß das Wasser des Thermostaten eindringt, ist die Verbindungsstelle mit einer Quecksilberschicht umgeben; außerdem kann ein Gummiband an den Haken *d* befestigt werden. Die Röhre *b* trägt eine Erweiterung *c*, die einen inneren Durchmesser von 5 cm hat und 10 cm hoch ist; über die Erweiterung biegt sich die Röhre. An der Biegung zweigt sich vertikal eine Röhre ab, die durch einen Hahn *f* geschlossen wird; oberhalb des letzteren erweitert sie sich trichterförmig und kann an dieser Stelle durch einen Glasstopfen verschlossen werden. Die Röhre *f* erweitert sich zu einem Querdurchmesser von 4 cm mit einem Längendurchmesser von $1^1/_2$ cm. Diese Erweiterung ist zur Aufnahme des Quecksilbers bestimmt, das in der Röhre *h* enthalten ist, wenn bei Erlöschen der Flamme des Thermostaten das Quecksilber nach dem inneren des Regulators fließen sollte. Die Röhre *h* wird bei *h* capillar, erweitert sich wieder und bildet die Röhre *h*, die an einer Stelle, um Verschiebungen der Röhre *l*, durch die das Gas eindringt, zu verhindern, verjüngt ist. Der Zweck der Verbindung *a*—*b* besteht darin, den Umtausch des das Petroleum enthaltenden Gefäßes *a* zu ermöglichen, so daß letzteres entsprechend der Form des Thermostaten durch ein anderes ersetzt werden kann. Die Erweiterung *e* ist angebracht, damit der Apparat die Temperatur der hoch gelegenen Stellen des Thermostaten annimmt. Die Röhre *e* reicht bis zur Öffnung der Capillare *h*; sie hat unten eine Öffnung von

2 mm Durchmesser, die horizontal wagerecht, nicht flotenartig geformt ist. Um den Apparat mit Petroleum zu füllen, gießt man es zuerst in die Röhre *a*; dann nimmt man den oberen Teil des Regulators, hält ihn etwas geneigt und füllt die Erweiterung *e*, indem man eine geeignete, mit Petroleum gefüllte Pipette bis zum Hahn *f* einführt. Auf diese Weise führt man das Petroleum in die Erweiterung *g* ein, in die man schon vorher durch salpetersaures Quecksilber wohl gereinigtes Quecksilber gebracht hat. Wenn der ganze Apparat gut gefüllt ist und in den Thermostaten gebracht wird, dehnt sich das Petroleum aus und sammelt sich im Trichter *f* 2; wenn die gewünschte Temperatur erreicht ist, schließt man den Hahn *f* und stellt die kleinste erforderliche Flamme ein, indem man den Schraubenklemmer *k* richtig stellt.

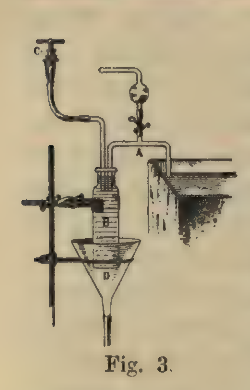


Fig. 3.

Mit diesem Wärmeregulator ist es mir gelungen, die Temperatur des Bades konstant zu erhalten, die höchstens um 0,02° bis 0,03° innerhalb 24 Stunden schwankt und sich mehrere Wochen lang unverändert erhielt. Indem ich den Apparat für die graphische Registrierung auf die schon beschriebene Weise einrichtete, selbstverständlich ohne etwas indas Gefäß zu bringen (Fig. 3), erhielt ich eine horizontale Linie, die sich 12 Tage hintereinander so erhielt, abgesehen von einigen unmerklichen Zickzacklinien, die von Temperaturschwankungen herrührten, die 0,01° bis 0,03° nicht überstiegen. Dies war eine unerläßliche Bedingung, wenn eine genaue Auslegung der Oxydationskurven ermöglicht werden sollte. Ein Gefäß (*b*), in das das Wasser in kleinem Überschuß einströmte und welches mit dem Thermostaten durch einen Heber *a* in Verbindung war, diente als Reservoir, um das Wasserniveau in dem Thermostaten konstant zu erhalten.

Einleitende Versuche.

Wenn man die beschriebene Methode beim Studium der durch Oxydasen bewirkten Oxydationen verwenden will, so muß

man sich vor allem zuerst vergewissern, daß bei der Reaktion keine anderen Gase gleichzeitig bei der Absorption von Sauerstoff entstehen, weil man sonst die erhaltene Kurve nicht richtig erklären könnte. Nun tritt aber gerade bei der Oxydation einiger Substanzen Bildung von Kohlensäure ein.

Bertrand[1]) fand, daß eine starke Erzeugung von Kohlensäureanhydrid bei der Oxydation des Pyrogallols unter Einwirkung der Laccase zu konstatieren ist; Berthelot[2]) fand, daß, wenn die Oxydation nicht vollständig ist, außer der Kohlensäure auch Kohlenoxyd erzeugt wird. Abelous und Biarnès[3]) konstatierten, daß bei Oxydation des Salicylaldehyds unter Einwirkung der Leberoxydase auch Kohlensäure entsteht.

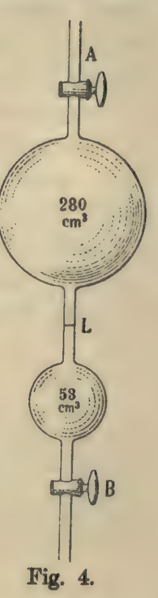


Fig. 4.

Es war also notwendig, sich davon zu überzeugen, ob dies auch bei den anderen Substanzen geschieht, die allgemein beim Studium der Oxydationswirkungen verwendet werden. Zu diesem Zweck benutzte ich ein Gefäß, wie es in Fig. 4 dargestellt ist, von dem eine Kugel 280 ccm und die andere 53 ccm faßt. Die zwei Kugeln werden durch zwei Glashähne *a* und *b* an den beiden Enden geschlossen. Zunächst wird das Gefäß mit Wasser gefüllt, dann wird dieses durch reinen Sauerstoff oder durch kohlensäurefreie Luft ersetzt; man hält dabei das Gefäß senkrecht und läßt das Gas durch den Hahn *a* einströmen, während das Wasser aus dem unteren Hahn *b* abfließt, der sich unter Wasser befindet. Man schließt hierauf beide Hähne, bringt den oberen *a* in Verbindung mit einer Saugpumpe, die schon vor Öffnung des Hahnes selbst in Tätigkeit gesetzt worden ist. Dann läßt man in die kleine Kugel die eben zubereitete Mischung der Oxydase und der zu oxydierenden Substanz bis zum Strich *f* steigen. Daraufhin werden die Hähne zugedreht und das Gefäß

---

[1]) G. Bertrand.

[2]) Berthelot, C. R. Acc. Sciences **126**, 1459, 1898.

[3]) Abelous und Biarnès, Nouvelles recherches sur le mécanisme des oxydations organiques. C. R. Soc. Biol. **1896**, 94.

wird in den Thermostaten gesetzt, wo es einer stetigen Rührung unterworfen wird.

Wenn die Oxydation genügend vorgeschritten ist, bringt man das Gefäß wieder in eine vertikale Lage, und während man Wasser in den unteren Hahn hineinläßt, läßt man langsam das darüber befindliche Gas durch eine Waschflasche, die Bariumhydrat enthält, strömen, um die Anwesenheit von Kohlensäure nachzuweisen. Zur quantitativen Bestimmung der Kohlensäure verwendete ich den Grandisschen Apparat.[1]) Um zu sehen, ob sich Kohlenoxyd gebildet hat, läßt man eine gewisse Menge Luft durch eine Lösung von Oxyhämoglobin, die man dann spektroskopisch untersucht, strömen.

Bei diesen Manipulationen muß man daran denken, daß, wenn die Oxydation weit vorgeschritten ist, im Innern des Gefäßes eine ziemlich starke Druckverminderung stattgefunden haben kann.

Ich lasse hier die für die verschiedenen Substanzen erhaltenen Resultate folgen.

Pyrogallol.

1. 70 ccm Pyrogallol in 2 % wässeriger Lösung + 5 ccm Laccaselösung[2]). Bleibt 16 Stunden bei 35° im Thermostaten. Anfangsvolumen der Luft 280 ccm. Nach Beendigung des Experiments finde ich:

absorbiert 6,0469 ccm O_2
gebildet 3,37 ccm CO_2.

CO hat sich nicht gebildet.

2. 70 ccm einer 2 %igen Pyrogallollösung + 5 ccm $NaOH^n/_{10}$ + 5 ccm Laccasellösung. Volumen der Luft 280 ccm. Nach 16 Stunden bei 35° finde ich:

absorbiert 13,2417 ccm O_2
gebildet 3,3070 ccm CO_2,

Kein CO vorhanden.

3. 70 ccm einer 2 %igen wässerigen Pyrogallollösung + 5 ccm $NaOH^n/_{10}$ (ohne Laccase). Volumen der Luft 280 ccm. Nach 17 Stunden bei 35° finde ich:

---

1) V. Grandis.

2) Aus der „Russula delica" extrahierte Laccase.

absorbiert 12,4262 O_2
gebildet 0,4762 CO_2.

4. 70 ccm einer 6 % igen Pyrogallollösung (ohne Natronlauge oder Laccase). Volumen der Luft 280 ccm. Nach 17 Stunden bei 35° ist die Lösung leicht gelb gefärbt:

absorbiert 2,3888 O_2
gebildet 0,5043 CO_2.

Bei der Oxydation des Pyrogallols findet also, mag sie nun in Anwesenheit oder in Abwesenheit von Natriumhydrat und Laccase erfolgen, eine konstante Erzeugung von Kohlensäure statt, eine Bestätigung der Experimente von G. Bertrand.

Die anderen Substanzen.

Bei der Oxydation des Tyrosins (gesättige Lösung) mit der Tyrosinase eines Glycerinextrakts von Russula delica, bei der Oxydation des Guajakols (wässerige gesättigte Lösung), des Paraphenylendiamins (1 % ige Lösung), des Hydrochinons (10 % ige Lösung) und des Guajakharzes (5 ccm alkolische Lösung in 100 ccm Wasser) mit der Laccase entstanden nie auch nur Spuren von Kohlensäure oder Kohlenoxyd. In allen Fällen ergab die Analyse der Luft eine starke Absorption von Sauerstoff, und die Substanz hatte die für die eingetretene Oxydation charakteristische Farbe angenommen.

Bisherige Versuche.

Nachdem so bewiesen ist, das außer dem Pyrogallol und dem Salicylaldehyd (Abelous und Biarnès) die anderen Substanzen ohne Entstehung von Kohlensäureanhydrid oder Kohlenoxyd oxydiert werden, wendete ich die beschriebene Methode zum Studium der Wirkung der Laccase auf Hydrochinon, Paraphenylendiamin, Guajaharz und Guajakol und der Tyrosinase auf Tyrosin an. Diese ersten Experimente wurden mit willkürlicher Wahl der Konzentration des Ferments und des Substrats sowie der Temperatur ausgeführt.

Einstweilen beschränke ich mich auf die Wiedergabe der erhaltenen Kurven, bei denen ein Absteigen der Kurve wahrzunehmen ist, welche die Abnahme des Druckes und mithin des Volumens ausdrückt, die in dem Gefäß eingetreten ist, in

Fig. 5.
Oxydation von 200 ccm 10 % Hydrochinonlösung mit Laccase. T. 29°,97.

Fig. 6.
Oxydation von Guajaktinktur mit Laccase. T. 32°,56.



Fig. 7.
on von 200 ccm 1%iger
nylendiamin-Lösung mit
accase. T. 38°,11.

Fig. 8.
Oxydation von Guajacol (gesättigte wässrige Lösung) mit Laccase.

Fig. 9.
Oxydation von 200 ccm gesättigter Tyrosinlösung mit 2 ccm Glycerinextrakt von „Russula Delica“. T. 32°,58.

dem die Oxydation infolge der Absorption von Sauerstoff[1]) erfolgte. Schon aus diesen Kurven ersieht man, daß im allgemeinen auf einen ersten Zeitabschnitt, während dessen die Reaktion langsam eintritt, ein anderer folgt, in dem sie ergiebiger fortschreitet, um von neuem gegen Ende der Reaktion selbst langsamer zu werden, da sich die Kurve alsdann der Horizontalen nähert.

Mit Hilfe dieser Methode wird es ferner möglich sein, den Einfluß der Temperatur, der Konzentration des Ferments und des Substrats auf den Verlauf der Reaktion zu studieren.

Und wenn man überall, wo es möglich ist, diese Methode anwendet, die uns gestattet, den Sauerstoff als einen bei der Reaktion beteiligten Faktor quantitativ zu ermitteln und vermittels anderer Methoden die gebildeten Körper (z. B. des Malachitgrüns) bestimmen wird, so wird es vielleicht möglich sein, die Gesamterscheinung der Wirkung der Oxydasen vom Gesichtspunkte der Phasenregel aus zu studieren. Wir müssen bedenken, daß es sich um ein triphasisches System handelt, zu dessen Bildung eine flüssige Phase, eine gashaltige Phase (Sauerstoff) und eine feste Phase (kolloidale Granula des Ferments) beitragen.

Ferner wird es interessant sein, das Aktionsgesetz der organischen Oxydasen mit dem der kolloidalen Metalle zu vergleichen, welche auch die Eigenschaft besitzen, einige Phenole[2]) zu oxydieren; vermittels derselben Methode wird man die Peroxydase und die Katalase studieren können.

Man muß jedoch immer bedenken, daß, wenn bei der Reaktion eine Gasphase eintritt, die Oberfläche, mit der die Flüssigkeit mit dem Gas in Berührung kommt, von großer Wichtigkeit ist, und daß es schwerlich gelingen wird, ein Wirkungsgesetz mit absoluter Genauigkeit zu bestimmen; man wird nur die Experimente zu Vergleichen berücksichtigen können, die mit denselben Gefäßen und unter denselben Verhältnissen der Oberfläche angestellt worden sind.

---

[1]) Die Kurven sind in natürlicher Größe wiedergegeben und 225 mm lang, wie schon oben erwähnt, einer Stunde entsprechend.

[2]) C. Foà e A. Aggazzotti, Sull'azione ossidasica dei metalli colloidali da soli ed in presenza di ossidasi. Atti della R. accad. di Medicina. Torino.

Lipolyse, Agglutination und Hämolyse.

IV. Mitteilung.

Von

C. Neuberg.

(Aus der chemischen Abteilung des Pathologischen Instituts der Universität Berlin.)

Vor einiger Zeit haben C. Neuberg und E. Rosenberg[1]) beobachtet, daß eine Reihe natürlich vorkommender Hämolysine und Agglutinine (Crotalus-, Mocassin-, Cobra- und vielleicht auch das Bienengift von Morgenroth und Carpi sowie Crotin- und Ricin) ein deutliches enzymatisches Spaltungsvermögen gegenüber Fetten und Lipoiden (z. B. Olivenöl, Ricinusöl, Lecithin) besitzen. Diese Befunde sind sodann von C. Neuberg und K. Reicher[2]) erweitert, indem sie für bactericide und antitoxische Sera sowie für Magen- und Pankreasfermente einen Parallelismus zwischen Hämolyse und Fettspaltung konstatierten; das gleiche beobachteten dieselben Autoren[3]) bei einigen cytolytischen und bakteriolytischen Seris.

Von großer Wichtigkeit ist nun, wie schon früher betont, die Frage: Ist die Lipolyse irgendwie am Zustandekommen von Hämolyse bzw. Agglutination beteiligt oder ist die Fettspaltung lediglich eine zufällige Begleiterscheinung? Die Beantwortung dieser Frage ist, wie auch schon früher hervorgehoben wurde, mit außerordentlichen Schwierigkeiten verknüpft.

---

[1]) C. Neuberg u. E. Rosenberg, Lipolyse, Agglutination und Hämolyse I. Berl. klin. Wochenschr. 1907, Nr. 2.

[2]) C. Neuberg u. K. Reicher, Lipolyse, Agglutination und Hämolyse II. Diese Zeitschr. 4, 281, 1907.

[3]) C. Neuberg u. K. Reicher, Lipolyse, Agglutination und Hämolyse III. Münch. med. Wochenschr. 1907, Nr. 35.

Die Befunde von U. Friedemann[1]) und J. Wohlgemuth[2]), welche die bereits von Delezenne[3]) entdeckte hämolytische Eigenschaft des Pankreassaftes näher studierten, weisen auf einen inneren Zusammenhang zwischen beiden Erscheinungen hin, speziell hat sich Wohlgemuth (l. c.) für einen solchen ausgesprochen, allerdings auch außerdem eine gleichzeitige Mitwirkung des proteolytischen Fermentes in Betracht gezogen. Einen unzweifelhaft durch Fettspaltung zustande kommenden Fall von Hämolyse hat Hideyo Noguchi[4]) beschrieben.

Eine prinzipielle Entscheidung wäre nun gegeben, wenn eine glatte Trennung der lipolytischen und hämolytischen bzw. agglutinierenden Funktion gelänge, derart, daß eine Fraktion nur auf Fette, die andere allein auf Blutkörperchen wirkte. Dabei darf man sich nicht damit begnügen, eine der Komponenten zum Verschwinden zu bringen; denn die Verhältnisse könnten ähnlich wie bei Lab-Pepsin liegen, d. h. durch geeignete Milieuänderung könnte der unwirksam gewordene Anteil wieder aktiv werden.

Ich habe nun mit Ricin einerseits und Pankreassaft andrerseits eine Reihe von Trennungen versucht. Dieselben sind sämtlich negativ verlaufen, so daß vorläufig auf die Wiedergabe der Einzelheiten verzichtet werden kann.

Folgende Scheidungsprinzipien kamen zur Anwendung:

a) Rote Blutkörperchen (vom Kaninchen) absorbieren nach M. Jacoby[5]) (vergl. auch F. Müller[6]), aus einer Ricinlösung das Agglutinin, wenn sie im Überschuß vorhanden sind. Nach 12stündigem Stehen ist das Filtrat der agglutinierten Blutkörperchen nur noch schwach agglutinierend; aber auch das Fettspaltungsvermögen gegen Lecithin und Olivenöl ist fast vollkommen verschwunden.

b) Nach Cushny[7]) und M. Jacoby[5]) fixieren Fibrinflocken

[1]) U. Friedemann, Deutsche med. Wochenschr. 1907, Nr. 15.

[2]) J. Wohlgemuth, Diese Zeitschr. 4, 271, 1907.

[3]) Delezenne, Compt. rend. 55, 171, 1903.

[4]) H. Noguchi, Über eine lipolytische Form der Hämolyse. Diese Zeitschr. 6, 185, 1907.

[5]) M. Jacoby, Über Ricinimmunität I und II. Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 1, 51, 1902 und 2, 535, 1902.

[6]) F. Müller, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 42, 302, 1899.

[7]) Cushny, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 41, 439, 1898.

aus einer Ricinlösung das Agglutinin; in dem Maße, als dieses absorbiert wird, vermindert sich auch die lipolytische Wirkung.

c) Wie L. Michaelis und P. Rona[1]) sowie L. Michaelis[2]) gezeigt haben, können Fermente durch verschiedene Absorbenzien häufig quantitativ ihren Lösungen entzogen werden, und zwar dann, wenn das Vorzeichen ihrer eigenen elektrischen Ladung dem des Absorptionsmittels entgegengesetzt ist. Versuche mit Ricinlösungen und Kaolin sowie Kohle zeigten, daß bei Anwendung von Kohle Agglutinin und Lipase bei jeder Reaktion absorbiert werden. Bei den Kaolinproben wurden gleichfalls bei saurer, alkalischer wie neutraler Reaktion beide Prinzipien absorbiert, es blieb jedoch in jedem Falle von beiden ein deutlicher Rest.

d) Bei Versuchen, aus Pankreassaft mit Fibrinflocken die Lipase oder das Hämolysin zu absorbieren, wurden vorläufig wechselnde Resultate erhalten. In einigen Fällen gelang die Fixation des fettspaltenden Fermentes, jedoch nie vollständig, so daß die abfiltrierte Lösung beide Wirkungen aufwies.

e) Nach der Kaolinmethode wurden Lipase u. Hämolysin bei neutraler und alkalischer Reaktion vollständig, bei saurer nur zum Teil absorbiert, und das Filtrat zeigt beide Wirkungen.

Die Frage, ob die Lipolyse ein Teilvorgang der Hämolyse bzw. Agglutination oder eine zufällige Begleiterscheinung ist, bleibt nach wie vor offen. Wie aber auch ihre Beantwortung schließlich ausfallen mag, selbst einem zufälligen Zusammengehen beider Vorgänge wird man in Zukunft erhöhte Bedeutung beimessen müssen. Denn die Erfahrungen der letzten Jahre haben gezeigt, daß an den Immunitätserscheinungen Fette, Lipoide und Seifen einen unverkennbaren Anteil nehmen. Zu diesem Schlusse sind fast alle Autoren gelangt, so verschieden auch ihre sonstigen Voraussetzungen sind. Es sei nur an die Arbeiten von Kyes, Sachs, Morgenroth, Korschun, Carpi, Wassermann, Porges, v. Liebermann, Noguchi, Bayer, Landsteiner, Bang, Forssman, Gottlieb u. Leffmann,

---

[1]) L. Michaelis u. P. Rona, Diese Zeitschr. 4, 11, 1907.

[2]) L. Michaelis, Diese Zeitschr. 7, 488, 1908; vgl. auch L. Michaelis u. M. Ehrenreich, Diese Zeitschr. 10, 283, 1908.

v. Baumgarten, Hamburger, Pascucci, Traube und von vielen anderen erinnert.

Bei dieser Sachlage ist es selbstverständlich, daß die spezifischen Fermente der Fett- und Lipoidsubstanzen, die Lipasen, welche zugleich typische Seifenbildner sind, bei den Immunitätserscheinungen eine wichtige Rolle spielen können. Dieselbe wird von den auf diesem Gebiete arbeitenden Autoren nicht länger vernachlässigt werden dürfen.

Inhaltsverzeichnis.

